

ザイモサン貪食時のIba1の細胞内局在

## 〔総説〕

### 「ミクログリアの役割とIba1タンパク質」

大澤圭子 …… 2

### 「環境調和型酸化オスmiumによるジオールの合成反応」

竹本佳司、柳田玲子 …… 5

## 〈テクニカルレポート〉

### 「Presep®-C DNPHショートタイプの開発(その2)」

久保田守 …… 8

## 〈Talking of LAL〉

### 「第54話 リムルス試薬の将来」

土谷正和 …… 9

## 〈脳科学—口メモ〉

### 「神経科学・精神科学の一層の発展を!」

野村靖幸 ……10

## WAKO ワークショップ見聞録

小林真紀子 ……26

## 〔百年前の化学〕

### 「1904年の化学を顧みて」

芝 哲夫 ……29

## 〔製品紹介〕

### 有機合成

 酸化オスmium触媒 ……7  
 (株)ワコーケミカル カーボンナノチューブ ……14

### 環境・分析

 プレセップ®-C DNPH …… 8  
 プレセップ® 活性炭埋蔵シリカゲル (リバース) …… 12  
 改正水道法対応水質分析用試薬 ……13  
 (株)エルメックス アクアテスト II ATB-100 ……14  
 エンドファイトキシン試験用試薬 …… 15  
 局方対応生薬標準品 …… 15

### 細胞生物

 抗Iba1, ウサギ …… 4  
 アルカリホスファターゼ活性測定キット  
 「ラボアッセイ™ ALP」 …… 16  
 サイトカイン新製品 …… 16  
 UBI社 H2A.Xりん酸化アッセイキット ……17  
 Mg<sup>2+</sup>検出用蛍光プローブ「KMG-20-AM」 ……18  
 Mass Consortium社「DIOS」 ……18  
 リシルエンドペプチダーゼ、質量分析グレード ……19  
 トリプシン、質量分析グレード …… 19  
 Sidec Technologies社 タンパク質構造解析  
 受託分析サービス …… 19  
 Toll-like receptor抗体 …… 28

### 生化学

プレキャストゲル「スーパーセップ™」 …… 20

### 遺伝子

 Evrogen社 蛍光タンパク質発現ベクター …… 22  
 逆転写酵素「リバースクリプト™ III」 …… 24  
 リボヌクレアーゼⅢ, 組換え体, 溶液 …… 25  
 amaxa社 Nucleofector™を使用した  
 siRNA導入アプリケーション …… 25

## 〔お知らせ〕

トライアルサンプル準備しました!

NO測定・除去用試薬 ……11

20/20 GeneSystem社

Multi-replica Blotting Kit—ULTRA モニター募集 ……21

## ミクログリアの役割とIba1タンパク質

国立精神・神経センター 神経研究所 代謝研究部 大澤 圭子

### はじめに

従来、ミクログリアは、脳内の死細胞や異物を除去し炎症時の免疫反応に関わる細胞であると考えられてきた。しかし、近年、脳の環境変化をいち早く察知して反応する感度の高いセンサー細胞で、脳の恒常性を維持するために重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。本稿では、現在考えられているミクログリアの役割について述べるとともに、ミクログリアの新しいマーカー分子として有用な Iba1 タンパク質について説明する。

### ミクログリアとは

中枢神経系には、ニューロンの他にアストロサイト、オリゴデンドロサイトとミクログリアの3種類のグリア細胞が存在する。ミクログリアは他のグリア細胞とは異なり、幼弱期の脳に入った骨髄由来の単球を起源とする説が有力で、これを裏付けるようにマクロファージと共通したマーカータンパク質を発現する<sup>1)</sup>。

ラットの場合、ミクログリアは胎生初期から脳内に認められるが、胎生後期から出生直後に細胞体が比較的大きく突起をほとんど持たないアモイドミクログリアが現れる (図1 A)。

この時期には分裂を終えたニューロンの多量な細胞死が生じており、活発な貪食能を示すアモイドミクログリアは死細胞の除去に働くと考えられる。生後2週間後にはアモイドミクログリアは減少し、かわりに細胞体が小さく長く多数に分岐した突起を持つラミファイドミクログリアが現れる。ラミファイドミクログリアは静止状態にあると考えられており、成熟した正常脳のあらゆる部位に散在している (図1 B)。

### 活性化ミクログリアの役割

脳の損傷時や神経変性疾患 (アルツハイマー病、クロイツ・ヤコブ病、パーキンソン病など)、多発性硬化症、脳梗塞、ウイルス感染や脳腫瘍などの病態時に、ミクログリアが変化 (活性化) することが見出され、病態との関連が注目されてきた<sup>2)</sup>。たとえば、アルツハイマー病の脳では、広範囲にわたるミクログリアの活性化と老人斑への集積が認められる。そのため、老人斑の主要成分であるβアミロイド (Aβ) によるミクログリアの活性化について多くの研究が行われている。不溶化凝集したAβで刺激したミクログリアから、増殖を促すM-CSFや、ケモカキスを誘導するケモカイン類 (IL-8、MIP-1α、MIP-1β、MCP-1) や補体成分 (C3) が

産生・放出され、また、細胞膜上の補体レセプターの発現が上昇する。脳内では、これらの分子によりミクログリアの増殖と老人斑への集積がおこり、貪食能が活性化され、ミクログリアは凝集Aβを除去する可能性が指摘されている。一方、Aβの刺激によりミクログリアは炎症性サイトカイン (IL-1β、IL-6、TNF-αなど) や酸化窒素 (NO) も産生・放出する。これらの因子が周囲の細胞に作用して、脳内炎症の誘発やAβの産生と凝集を逆に促進し、神経細胞の変性や細胞死を引き起こすと推定されている<sup>3,4)</sup>。

損傷や多くの疾患は血液脳関門の破壊を伴い、末梢血液中から浸潤してきた単球・マクロファージと脳内在性のミクログリアとが区別できないため、今までミクログリアの挙動は不明瞭であった。しかし、ラットの顔面神経、舌下神経、座骨神経軸索の切断は血液脳関門を維持したまま神経の変性を引き起こすことから、近年、これらの神経切断モデルを用いて脳内ミクログリアの反応が観察されている。新生児ラットの顔面神経を切断すると神経細胞死が起こるのに対し、アダルトの場合は細胞死は起こらず、神経は再生することが知られている。新生児ラットの切断側の神経核では、貪食能の活性化したミクログリアが観察されるが、アダルトでは貪食能を伴う活性化はほとんど起こらず、ミクログリアの増殖と運動神経細胞体を取り囲むようにした集積が観察される<sup>5,6)</sup> (図2)。この活性化は神経の再生に伴い沈静化することから、活性化ミクログリアの神経再生・修復過程への関与が推測されている。

活性化ミクログリアの細胞特性は、増殖能や移動能、貪食能、抗原提示能の亢進と、神経栄養因子 (NGF、BDNF、GDNFなど) やサイトカイン類、ケモカイン類、TGF-β、TNF-α、活性酸素やNOなどの神経障害性物質など、様々な生理活性物質を産生・分泌することである<sup>7,8)</sup>。活性化ミクログリアは、末梢血から脳内に浸潤してきた免疫系細胞と相互作用して免疫反応を調節すると共に、周囲のニューロンやグリア細胞にも作用し、炎症や病変部の細胞死または組織修復に重要な役割を担うと考えられている。

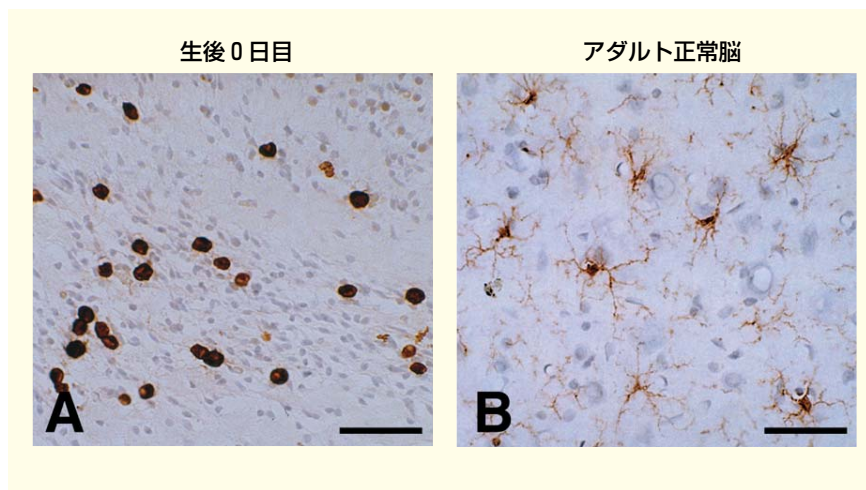


図1. ミクログリアの組織像

抗 Iba1 抗体を用いてラット脳組織切片を免疫染色した (DAB 発色)。A: 生後直後のラット白質のアモイドミクログリア、B: 正常時のアダルトラット大脳皮質のラミファイドミクログリア。スケールバーは500μm。文献(10)より改変。

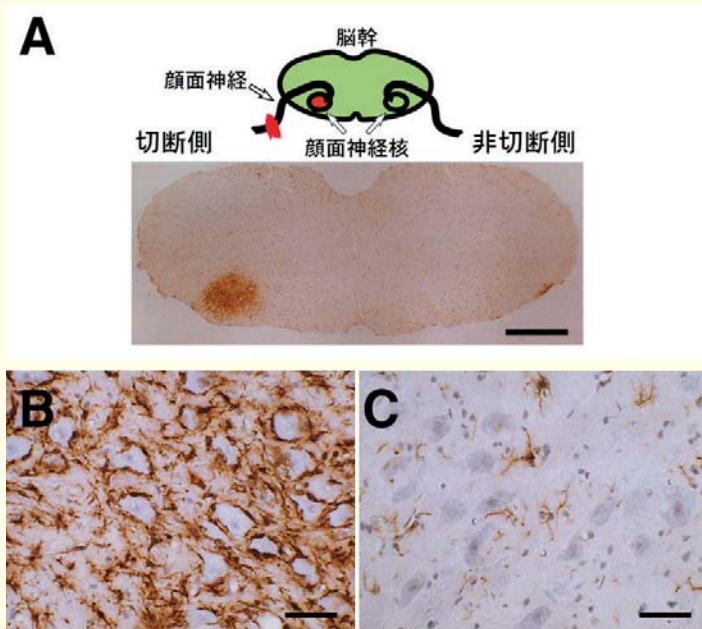


図2. 顔面神経軸索切断により活性化された顔面神経核のミクログリア

アダルトラット顔面神経の軸索切断7日後に、脳幹部の組織切片を作製し、抗Iba1抗体を用いて免疫染色した。A：顔面神経核を含む脳幹部の低倍率像。顔面神経切断側の神経核にIba1の強い染色性を示すミクログリアの増殖が認められる。スケールバーは500 $\mu$ m。B：神経切断側神経核の高倍率像。変性神経細胞体の周囲を取り囲むようにして活性化ミクログリアが配置している。C：非切断側神経核の高倍率像。スケールバーは50 $\mu$ m。文献(6)より改変。

### マクロファージ/ミクログリア特異的タンパク質 Iba1

Iba1 (Ionized calcium binding adapter molecule 1) は、マクロファージとミクログリアに特異的に発現する、EFハンド構造を持つ17kDaのカルシウム結合タンパク質である<sup>9, 10</sup>。ラットの顔面神経切断によるミクログリアの活性化に伴い、その発現量が増加することから、Iba1はミクログリアの活性化に関わる分子であることが推察された<sup>6</sup>。Iba1のミクログリア細胞内局在を抗Iba1抗体を用いた免疫染色で調べてみると、Iba1はM-CSF刺激により誘導される膜ラッフル<sup>注1)</sup>部位(図3)や、ザイモサン食食時に形成されるファゴサイティックカップ<sup>注2)</sup>にアクチンフィラメント(F-アクチン)と共に集積した(次頁図4)。Iba1欠損変異体をミクログリアに発現させると、膜ラッフルやファゴサイティックカップの形成が抑制されることから、Iba1は活性化ミクログリアの重要な機能である細胞移動や食食を調節する分子であるといえる<sup>11</sup>。

ミクログリアの膜ラッフルやファゴサイティックカップの形成は、アクチン細胞骨格再編成を制御する低分子量Gタンパク質Rhoファミリーの一つであるRacの活性化に依存している。

Iba1変異体はRacの活性化による膜ラッフルの形成を特異的に阻害し<sup>11</sup>、また、Iba1の強制発現によりRacの活性化が促進されることから<sup>12</sup>、Iba1はRacシグナル系に特異的に関わる分子であると考えられる。Racシグナル系は細胞運動能の調節だけでなく、活性酸素の産生や遺伝子発現などミクログリアの活性化を制御する主要なシグナル系である。

### おわりに

ミクログリアは、脳の異常を感知して活性化し、周囲の細胞と相互作用することで脳機能の維持に必要な役割を果たしている。脳内におけるミクログリアの多彩な機能がどのように調節されているのか、まだ多くの点が謎であり、今後の研究が期待される。

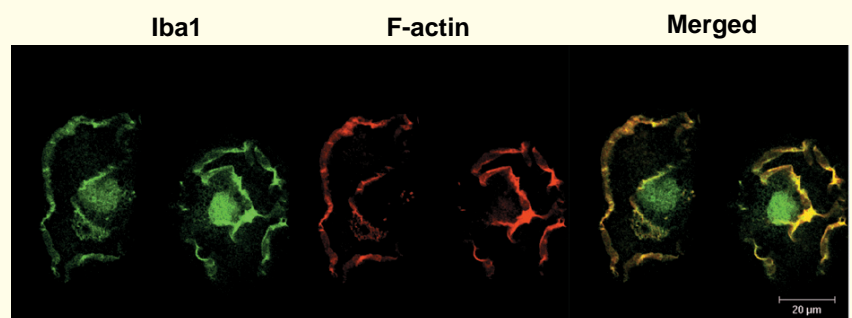


図3. Iba1のM-CSF刺激による膜ラッフル部位への集積とF-アクチンとの共存

血清非存在下の培地中で4時間培養した初代培養ミクログリアをM-CSFで刺激し、5分後に細胞を固定、抗Iba1抗体とF-アクチンと特異的に結合するテキサスレッド標識ファロイジンで二重染色した。緑がIba1、赤がF-アクチン、黄色は両者の共存を示す。細胞質に存在したIba1は、刺激により膜ラッフル部位に集積した。スケールバーは20 $\mu$ m。文献(11)参照。

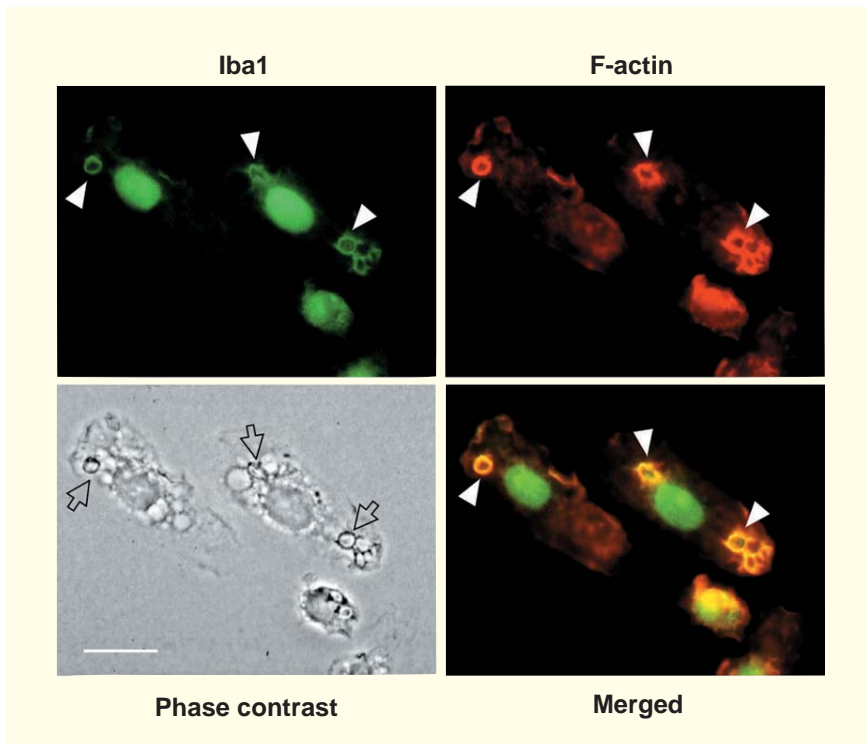


図4. ザイモサン貪食時のIba1の細胞内局在

ミクログリア細胞株 MG5 細胞にザイモサンを添加し、取込み開始5分後に細胞を固定、抗Iba1抗体とテキサスレッド標識ファロイジンで二重染色した。緑がIba1、赤がF-アクトン、黄色は両者の共存を示す。スケールバーは20 $\mu$ m。ザイモサン粒子(矢印)を取り囲むファゴサイティックカップ(矢じり印)にIba1の集積が認められる。ザイモサンが細胞内に完全に取込まれると、粒子の周囲のIba1とF-アクトンの集積は観察されなくなる。スケールバーは20 $\mu$ m。文献(11)参照。

[参考文献]

- 1) Ling, E.A. and Wong, W.C. : *Glia*, 7, 9-18 (1993).
- 2) Kreutzberg, G.W. : *Trends Neurosci.*, 19, 312-318 (1996).
- 3) Eikelenboom, P. *et al.* : *Glia*, 40, 232-239 (2002).
- 4) Rogers, J. *et al.* : *Glia*, 40, 260-269 (2002).
- 5) Graeber, M.B. *et al.* : *Brain Res.*, 813, 241-253 (1998).
- 6) Ito, D. *et al.* : *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 57, 1-9 (1998).
- 7) Raivich, G. *et al.* : *Brain Res. Rev.*, 30, 77-105 (1999).
- 8) Hanish, U.K. : *Glia*, 40, 140-155 (2002).
- 9) Imai, Y. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 224, 855-862 (1996).
- 10) Imai, Y. and Kohasaka S. : *Glia*, 40, 164-174 (2002).
- 11) Ohsawa, K. *et al.* : *J. Cell Sci.*, 113, 3073-3084 (2000).
- 12) Kanazawa, H. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, 277, 20026-20032 (2002).



注1) 膜ラッフル

細胞の辺縁部でF-アクトンが集積し波打つようにめくれ上がった細胞膜構造。移動時の細胞先端部や増殖因子などによる刺激時に観察される。

注2) ファゴサイティックカップ

貪食時に、細胞が粒子を取り込むために粒子の周囲を取り囲むようにして伸展した細胞膜構造。F-アクトンなどアクトン細胞骨格系タンパク質が集積している。

Products

ミクログリア特異抗体

Anti Iba1, Rabbit

Iba1はマクロファージ/ミクログリアに特異的に発現している分子量17,000のカルシウム結合タンパク質です。本品はミクログリアと特異的に反応するウサギポリクローナル抗体ですので、アストロサイトに特異的なGFAPモノクローナル抗体などとの二重染色に適しています。

形状 : TBS溶液 (0.5mg/ml)

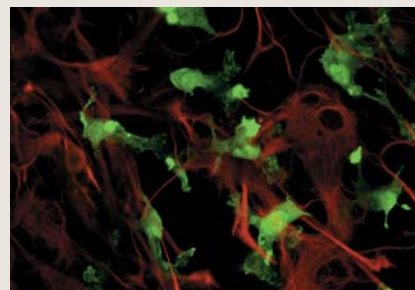
特異性 : ミクログリア、マクロファージに特異的に反応する。ニューロン、アストロサイトとは交差反応しない。ヒト、マウス、ラットIba1と反応する。

精製 : 抗原アフィニティー精製

使用法 : ①抗Iba1, ウサギ (Immunocytochemistry用) は Immunocytochemistry に最適です。1~2 $\mu$ g/ml で使用可能です。

②抗Iba1, ウサギ (Western blotting用) は Western blotting に最適です。

0.5~1 $\mu$ g/ml で使用可能です。



rat primary mixed culture cellsの二重染色像

緑 : 抗Iba1抗体 (Immunocytochemistry用)  
赤 : 抗GFAP抗体

データ提供 : 国立精神・神経センター神経研究所代謝研究部

■ Immunocytochemistry用

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-19741	Anti Iba1, Rabbit	免疫化学用	50 $\mu$ g(100 $\mu$ l)	30,000

■ Western blotting用

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-20001	Anti Iba1, Rabbit	免疫化学用	50 $\mu$ g(100 $\mu$ l)	30,000

### 1 はじめに

有機合成化学が今後目指すべき課題の1つに、既存の有用な反応をよりクリーンで安全な化学プロセスにするグリーンサステナブルケミストリーを指向した研究がある。現在、高活性な新触媒の開発、触媒の極限量までの低減、簡便な触媒の回収・再利用法の開発等をめざしたさまざまなアプローチが検討されている。本稿では、オレフィンに1,2-ジオールに変換する優れた試薬ではあるが、その毒性から使用が敬遠されている四酸化オスmiumを例にとりグリーンケミストリーの動向を紹介した。

四酸化オスmiumは、高価で毒性が高く(LD<sub>50</sub> 162mg)、さらに揮発性があるため回収・再利用が困難であることから、合成プロセスでの実用化にはかなりの困難を伴う。その一方で、オレフィンに当量の四酸化オスmiumを反応させ、還元的加水分解によりジオールを得るジヒドロキシル化反応は非常に有用であり古くから利用されてきた(図1)。近年、共酸化剤(*t*-BuOOH, NMO, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>など)存在下反応を行えば触媒量の四酸化オスmiumでも収率良くジオール体が得られることがわかり、その有用性は飛躍的に増大した。さらに、第三級アミンによりオスmium酸エステルの生成が加速することを利用してSharplessらは、触媒量のK<sub>2</sub>OsO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、光学活性第三級アミン[(DHQD)<sub>2</sub>PHAL, (DHQ)<sub>2</sub>PHALなど(図2)],そして共酸化剤としてK<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>からなる混

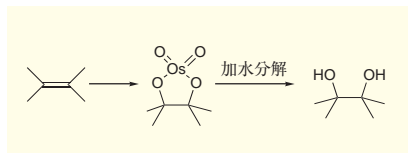


図1.

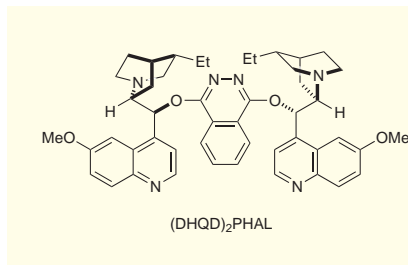


図2.

合試薬を用いるとオレフィンが高い不斉収率でジヒドロキシル化されることを見出し、触媒的不斉合成反応として完成の域に達した<sup>1)</sup>。しかし、触媒量とはいえ、使用しているオスmiumの回収と再利用はできておらず、グリーンケミストリーの観点からは、まだまだ問題を残していた。これらの問題を克服するため相次いで趣向を凝らした研究が発表された。1998年、小林らによりマイクロカプセル化四酸化オスmiumが開発され、NMOを共酸化剤とする不均一系反応がこれまでの均一系反応に遜色ない反応性を示すことが明らかにされた<sup>2)</sup>。さらに(DHQD)<sub>2</sub>PHALを不斉配位子として用いた高エナンチオ選択的不斉ジヒドロキシル化にも応用された<sup>3,4)</sup>。現在マイクロカプセル化四酸化オスmiumは無揮発性、回収・再利用可能な触媒として和光純薬から市販されている。その後、シリカゲルや<sup>5)</sup>、イオン交換樹脂<sup>6)</sup>、層状複水酸化物(Layered Double Hydroxide; LDA)<sup>7)</sup>等に固定化された四酸化オスmiumも開発され、オレフィンのジヒドロキシル化反応に利用されている(図3)。

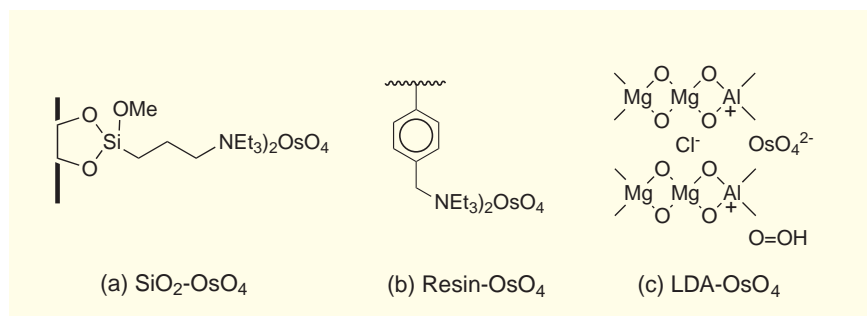
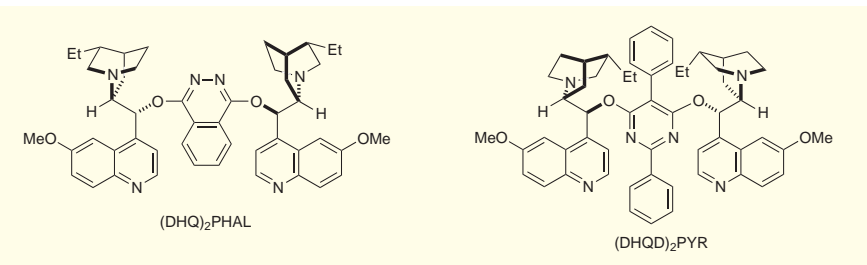


図3.



### 2 イオン性液体

イオン性液体(Ionic Liquid)とは、陽イオンや陰イオンを有機イオンに置き換えたもので、無機イオンと異なり融点が著しく低下し、室温で液体になるものもある。有機イオンが含まれると陽イオンと陰イオン間の距離、イオンの大きさ、かたち、対称性などが結晶構造の安定性に影響を与え、著しい融点降下をもたらした結果、室温付近で液体状態をとったものである(次頁図4)。またイオン性液体は水や有機溶媒などと混じりにくいという特徴がある一方で、非極性有機分子や遷移金属まで溶かすことができる利点もある。イオン性液体は蒸気圧が殆どないため環境中に有害な気体が蒸発することもなく、引火性、可燃性もないため安全性が高い。従来の溶媒よりはるかに高濃度の溶液とすることができる。構造的特徴であるアルキル鎖や対イオンの種類や組み合わせの変換も可能である。これらの性質を利用してイオン性液体を反応溶媒として使用した後、分離・回収・再利用することは、生産過程のコスト削減、資源の有効利用などの点からも興味あり、最近活発に研究されている環境調和型溶媒の一つである。

cation \ anion	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
	Na <sup>+</sup>	801
MeN <sup>+</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> NEt	77-79	38-41

図4. ナトリウム塩とエチルメチルイミダゾール塩の融点(°C)

### 3 四酸化オスミウムのイオン性液体中への固定化

四酸化オスミウムの均一系溶媒への固定化法として2002年、著者ら<sup>8)</sup>およびYaoら<sup>9)</sup>によってイオン性液体のユニークな特徴をいかしたジヒドロキシル化反応がほぼ同時期に発表された。医薬品などの原料として重要な1,2-ジオールを合成する際、四酸化オスミウムを蒸気圧が殆どないイオン性液体に溶解して使用すると、四酸化オスミウムの揮発性を激減するばかりでなく、回収・再利用も可能となった。

実際の操作は、触媒量のOsO<sub>4</sub>を含むイオン性液体[emim]BF<sub>4</sub>に、基質とNMO(我々の場合は反応系に水が含まれていないので、生成するオスミウム酸エステルを加水分解する目的でNMO・H<sub>2</sub>Oを使用)を加え、室温で20時間前後反応させたのち、少量のエーテルあるいは酢酸エチルを加え攪拌し、目的のジオールを抽出するというものである。有機層にはジオールの他に*N*-メチルモルホリン(NMM)が混入しているが、短いシリカゲル充填カラムにサッと通すだけでジオールのみを高収率で

得ることが可能である。使用したイオン性液体酸化オスミウム溶液は再利用可能で、基質とNMOを再度加えて初回と同様に攪拌するだけでよい。最終的に5-6回の繰り返し反応が可能なることを確認した。表1はこの方法による各種オレフィンのジヒドロキシル化反応の結果である。芳香族オレフィン、脂肪族オレフィン、末端オレフィン、内部オレフィン、一置換、二置換、三置換オレフィン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で合成できる。イオン性液体を用いるオレフィンの四酸化オスミウム酸化は、実験操作が非常に簡便で常温、常圧、開放系(通常は念のため平栓などをかぶせて反応させている)で行えるため極めて工業化しやすいシステムといえる。著者らと異なり、Yaoらは反応溶媒として[bmim]PF<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O/*t*-BuOH=1/1/2を用いているが、ほぼ同様の結果を得ている(図5)。

### 4 イオン性液体中、四酸化オスミウムによるエナンチオ選択的ジヒドロキシル化反応

著者、Yaoらによるイオン性液体中でのジヒドロキシル化が公表されたあと、イオン性液体酸化オスミウムを用いたエナンチオ選択的ジヒドロキシル化の論文が相次いで報告された。世界各国で似たような発想に基づき同様の研究がなされていたことになる。2002年にSongらによりOsO<sub>4</sub>(1.0mol%)、不斉配位子(DHQ)₂PHAL(2.5mol%)、共酸化剤NMO、溶媒 acetone/H<sub>2</sub>O/ionic liquid ([bmim]PF<sub>6</sub>, [bmim]SbF<sub>6</sub>)を用いる反応が報告された<sup>10)</sup>。欠点は共酸化剤にNMOを用いているため、

高い光学純度を得るために基質のオレフィンをシリンジポンプで長時間かけて加えなければならぬ点である。NMOを共酸化剤にする場合、触媒的オスミウム酸化では基質を一度に加える方法よりも、シリンジポンプを用いてゆっくりと加える方法(slow addition)をとると光学純度が飛躍的に向上することが報告されている<sup>11,12)</sup>。

同様にAfonsoら<sup>13)</sup>も、[bmim]PF<sub>6</sub>:H<sub>2</sub>O=1:2あるいは[bmim]PF<sub>6</sub>:H<sub>2</sub>O:*t*-BuOH=1:1:2からなる混合溶媒を用いK<sub>2</sub>OsO<sub>4</sub>・2H<sub>2</sub>O(0.5mol%)、(DHQD)₂PHALあるいは(DHQD)₂PYR(1.0mol%)、K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>(3eq)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3eq)存在下に基質を24時間反応させることにより、高い光学純度で光学活性ジオールを合成する手法を開発した(表2)。繰り返し実験で再度加えるのは共酸化剤K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>(3eq)と無機塩K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3eq)だけで、5回程度の繰り返し反応が可能である。収率と光学純度が低下した場合、K<sub>2</sub>OsO<sub>4</sub>・2H<sub>2</sub>Oと不斉配位子を追加する必要はあるものの、基質のオレフィンをシリンジポンプを使い長時間かけて滴下しなくても光学純度良くジオール体が得られることから、非常に簡便な環境調和型不斉ジヒドロキシル化が達成されたといえる。

### 5 四酸化オスミウム/PEG400による高速エナンチオ選択的ジヒドロキシル化反応

ごく最近ChandrasekharらによりポリエチレングリコールPEG400(MW400)を溶媒とする四酸化オスミウム酸化反応が報告された<sup>14)</sup>。極少量のOsO<sub>4</sub>(0.5mol%)、(DHQD)₂PHAL

表1. オレフィンのジヒドロキシル化反応(OsO<sub>4</sub> in [emim]BF<sub>4</sub>)

run	olefin	product	yield (%)
1	<chem>C=Cc1ccccc1</chem>	<chem>OCC(O)c1ccccc1</chem>	92
2	<chem>C=CCCCCCCC</chem>	<chem>OCC(O)CCCCCCCC</chem>	96
3	<chem>C=C(c1ccccc1)c2ccccc2</chem>	<chem>OCC(O)(c1ccccc1)c2ccccc2</chem>	96
4	<chem>C=C(C)c1ccccc1</chem>	<chem>OCC(O)(C)c1ccccc1</chem>	93
5	<chem>C=C1CCCCC1</chem>	<chem>OCC(O)C1CCCCC1</chem>	91

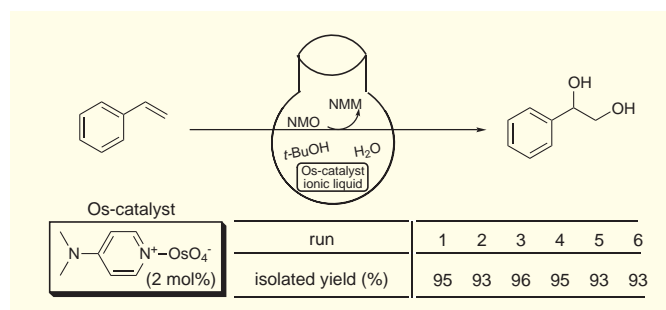





図5.

表2. オレフィンの不斉ジヒドロキシル化反応 (IL= [bmim] PF<sub>6</sub>)


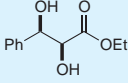
olefin	ligand	IL/H <sub>2</sub> O		IL/H <sub>2</sub> O/ <i>t</i> -BuOH	
		yield (%)	ee (%)	yield (%)	ee (%)
	PHAL	87	62	86	94
	PYR	86	75	90	89
	PHAL	47	92	53	87
	PYR	66	86	57	83
	PHAL	87	98	92	99
	PYR	81	96	79	77

(2mol%)とNMO・H<sub>2</sub>O (1.3eq)を使用し、反応溶媒にPEG400を用いる。目的物のジオールの単離はエーテル抽出によるが、エーテル層に混入するOsO<sub>4</sub>量は2ppm以下であることを原子吸光法により確認している。この反応の特徴は表3からもわかるように反応時間が非常に短いにもかかわらず光学純度が高いことである。イオン性液体中の反応と同様にこの反応でも5回程度の繰り返し反応が可能である。しかし、本反応ではPEG400中の不斉配位子が有機溶媒抽出の際一部溶出するため、適宜不斉配位子を補充する必要がある。

## 6 おわりに

揮発性、毒性の高い四酸化オスmiumを種々の方法で固定化し、触媒として繰り返し使用する方法が開発され、オレフィンからジオールの合成、さらに高エナンチオ選択的合成への応用が可能であることが示された。煩雑な操作を必要とせず一般性と実用性を兼ね備えた方法であると言えるが、未だクリーンで安全な反応とは言い難い。今後の課題として、空気中の酸素などよりクリーンで安価な酸化剤を利用した合成法の開発が望まれる。

表3. PEG400を用いた不斉ジヒドロキシル化反応

entry	product	time (h)	yield (%)	ee (%)
1		2	95	94
2		2	92	91

## 【参考文献】

- 1) Sharpless, K. B., Amberg, W., Bennani, Y. L., Crispino, G. A., Hartung, J., Jeong, K.-S., Kwong, H.-L., Morikawa, K., Wang, Z.-M., Xu, D., Zhang, X.-L.: *J. Org. Chem.*, **57**, 2768 (1992).
- 2) Nagayama, S., Endo, M., Kobayashi, S.: *J. Org. Chem.*, **63**, 6094 (1998).
- 3) Kobayashi, S., Endo, M., Nagayama, S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 11229 (1999).
- 4) Kobayashi, S., Ishida, T., Akiyama, R.: *Org. Lett.*, **3**, 2649 (2001).
- 5) Severeys, A., Vos, D. E., Fiermans, L., Verpoort, F., Grobet, P. J., Jacobs, P. A.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 586 (2001).
- 6) Choudary, B. M., Chowdari, N. S., Jyothi, K., Kantam, M. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 5341 (2002).
- 7) Choudary, B. M., Chowdari, N. S., Kantam, M. L., Raghavan, K. V.: *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 9220 (2001).
- 8) Yanada, R., Takemoto, Y.: *Tetrahedron Lett.*, **43**, 6849 (2002).
- 9) Yao, Q.: *Org. Lett.*, **4**, 2197 (2002).
- 10) Song, C. E., Jung, D.-U., Roh, E. J., Lee, S.-G., Chi, D. Y.: *Chem. Commun.*, 3038 (2002).
- 11) Wai, J. S. M., Marko, I., Svendsen, J. S., Finn, M. G., Jacobsen, E. N., Sharpless, K. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1123 (1989).
- 12) Lohray, B. B., Kalantar, T. H., Kim, B. M., Park, C. Y., Shibata, T., Wai, J. S. M., Sharpless, K. B.: *Tetrahedron Lett.*, **30**, 2041 (1989).
- 13) Branco, L. C., Afonso, C. A. M.: *Chem. Commun.*, 3036 (2002).
- 14) Chandrasekhar, S., Narsihmulu, C., Sultana, S., Reddy, N. R.: *Chem. Commun.*, 1716 (2003).



### エナンチオ選択的反応

通常、不斉を持たない基質と試薬からはラセミの生成物が得られる。これは、基質の反応点（例えば二重結合の面）に試薬が両方向から等価に攻撃するためである。しかし、遷移状態に参与しうろ何らかのキラル分子を反応系内に添加すると、2つの攻撃方向に差が生じ、片方のエナンチオマーが優先して得られることがある。

**Products**

**Wako**

揮発性を低減！ 回収・再利用可能な環境調和型酸化オスmium触媒

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
157-02481	Osmium (VIII) oxide, 1-Ethyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate	有機合成用	10g	照会

## Presep<sup>®</sup>-C DNPHショートタイプの開発(その2)

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 久保田 守

大気及び室内空気中のアルデヒド類測定用捕集管Presep<sup>®</sup>-C DNPH及びPresep<sup>®</sup>-C DNPH (Short)に関して、空気サンプリング時の通気速度と吸引抵抗(真空度)比較結果を本誌Vol.71, No.2で報告した。Presep<sup>®</sup>-C DNPH (Short)はPresep<sup>®</sup>-C DNPHと同様、高純度ポリエチレン製カートリッジにDNPH(2,4-ジニトロフェニルヒドラジン)と酸触媒をコーティングしたシリカゲルが充てんされている。ショートタイプは基材ゲル物性、フィルター性能の見直しを行い、高速サンプリングが可能である。以下、Presep<sup>®</sup>-C DNPH (Short)の特長と製品仕様ならびに上記2品目の選択方法、ブランク値と実試料測定例について記載した。

### 1. Presep<sup>®</sup>-C DNPH (Short)の特長

- 通気時の抵抗が低く、高流速でのサンプリングが可能
- 室内空気捕集に好適(厚生労働省法に準拠)
- バックグラウンド値が低い

### 2. 製品仕様

Table 1に示す。

### 3. 捕集管の選択

#### ●Presep<sup>®</sup>-C DNPH

汎用タイプ。大気捕集などに好適\*。充てん量がショートタイプの約2倍。

#### ●Presep<sup>®</sup>-C DNPH (Short)

室内空気や高通気速度での捕集に好適。サンプリングポンプの吸引能力に応じて本品を複数連結して使用することが可能。

\*:大気捕集の際、測定値がオゾンの影響を受ける場合は、オゾンスクラバー(Presep<sup>®</sup>-C Ozone Scrubber)を大気吸引側に取り付けて捕集を行う。

### 4. ブランク値と実試料測定例

Presep<sup>®</sup>-C DNPH (Short) 1本をポータブルポンプに接続し、実験室中の空気を流速1.0ℓ/min.で30ℓ採取した。試料採取した捕集管及び未使用の捕集管を各々アセトニトリル(和光アルデヒド分析用)にて流速約1.5ml/min.で抽出、5mlにメスアップ後、抽出液各10μℓをHPLCに注入した。

未使用捕集管の抽出液測定例をFig.1に示した。ブランク成分としてホルムアルデヒド、

アセトアルデヒド、アセトンが検出された。ブランク成分は捕集管及び抽出時に用いたアセトニトリル由来と思われるが、抽出操作(環境、器具類)から汚染を受ける場合があるので注意を要する。ブランク値測定の際、捕集管から抽出後、直ちにHPLC分析を行うことが望ましい。Fig.2は空気30ℓ採取したときのクロマトグラムである。

Table 1

	Presep <sup>®</sup> -C DNPH (Short)	Presep <sup>®</sup> -C DNPH
基 材	ポリエチレン製カートリッジ 破砕状シリカゲル 粒子径 150-450μm 細孔径 7nm 比表面積 450cm <sup>2</sup> /g	ポリエチレン製カートリッジ 破砕状シリカゲル 粒子径 75-150μm 細孔径 7nm 比表面積 450cm <sup>2</sup> /g
充てん剤量	約0.4g(シリカゲル)/カートリッジ	約0.8g(シリカゲル)/カートリッジ
DNPH量	約1mg/カートリッジ	約2mg/カートリッジ
サ イ ズ	全長 3.8cm、最大幅 1.9cmφ 充てん部 1.0φ×0.8cm	全長 5.0cm、最大幅 1.9cmφ 充てん部 1.0φ×1.6cm
試料負荷量	約75μg(ホルムアルデヒドとして)	約150μg(ホルムアルデヒドとして)

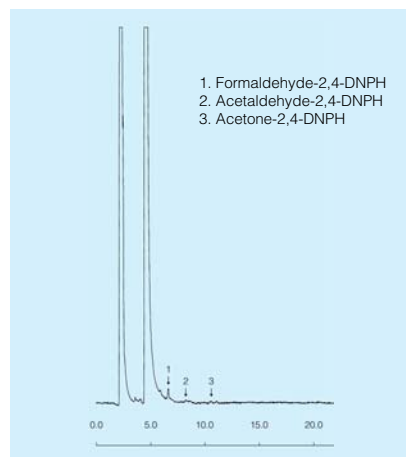


Fig.1. 捕集管ブランク

HPLC Conditions

Column: Wakosil-II 5C18 RS, 4.6×250mm, Eluent: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40(v/v), Flow rate 1.0ml/min at 40°C, Detection: UV360nm, 0.005AUFS(Fig.1), 0.04AUFS(Fig.2), Injection Vol.: 10μℓ

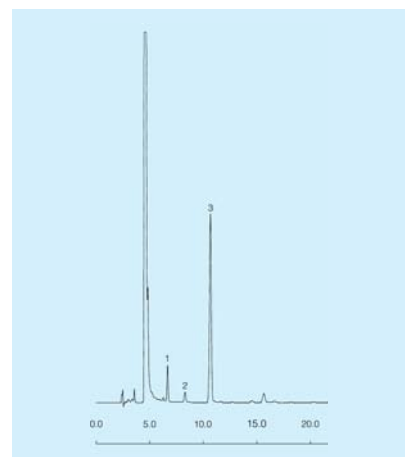


Fig.2. 空気30ℓ

## Products

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
290-34251	Presep <sup>®</sup> -C DNPH (Long)	試料前処理用	20個	29,000



## 第54話 リムルス試験の将来

エンドトキシン測定に関してはリムルス試薬の独壇場ですが、この試験が開発されてからすでに30年もの年月が経っています。この間、種々の技術は開発されたものの、カプトガニの献血によって試薬原料をまかなっている部分は変わっていません。科学技術が進歩する中、エンドトキシン測定は、今後どのようになっていくのでしょうか。また、エンドトキシン試験法は各国の局方に収載されていますが、公定法としてのエンドトキシン測定はどのようになっていくのでしょうか。ということで、今回は、リムルス試験の将来について考えてみましょう。

今年の6月に興味深い出来事がありました。米国のAssociates of Cape Cod (ACC) 社が、FDAに請願書を提出したのです。事の起りには、CAMBREX社のリコンビナントFactor Cを使ったエンドトキシン測定試薬が、FDAの認可を受けることなく発売されたことです。このPyoGeneという製品は、リムルス試薬中のエンドトキシン感受性因子であるFactor Cを遺伝子組み換えによって製造し、活性化型のFactor Cの基質と組み合わせ、産生される蛍光色素を測定するものです。FDAがこの製品を認可なしで発売することを許したことに對して、ACC社は、以下の要求を行いました。

- (1) 認可が必要ないという決定を取り消し、premarket approvalを要求する。
- (2) もし(1)ができなければ、ライセンスされていないエンドトキシン試験を使用しようとする製造業者は、バリデーションデータを申請し、当局の承認を受けるようにする。また、すでにライセンスされたエンドトキシン試験法に對して、すぐに規制を解く。

この、ACC社の嘆願書には、リムルス試薬のFDAによる規制の歴史なども書かれており、興味のある方は一度読まれるとおもしろいかもかもしれません。この文書は、FDAのホームページからダウンロードすることができます(www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/Jun03/061803/03p-0278-cp00001-01-vol1.pdf)。これに對してCAMBREX社も8月に文書を提出し、ACC社が要求した再審査やその他の指摘に對して、反論しています(www.fda.



gov/ohrms/dockets/dailys/03/Aug03/081403/03P-0278\_emc-000001-01.doc)。

9月にはACC社がCAMBREXの反論文書に再反論するというので、事態は混沌としてきています(www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/Sept03/092603/03p-0278-rc00001-vol1.pdf)。

論議の焦点は、遺伝子組み換えによって作られた動物血液由来の蛋白を、血液由来の製品として管理するかどうかということ、FDAがリムルス試薬の規制をどのようにしていくのかということでしょう。前者は当局の判断に任せるとしても、後者は筆者らにとって大きな影響がある部分です。今回のテーマであるリムルス試験の将来にも大きな関わりがあります。リムルス試薬は、単なる試験試薬であるにも関わらず無菌製造される生物製剤として扱われてきました。おそらく注射用の医薬品と同等の規制はリムルス試薬には厳しすぎるの反省もあり、現在はCFR 21 Part 660のリストから外されています。しかし、リムルス試薬は、もともと生物製剤としてライセンスされた製品ですから、CFR 21 Part 600の規制を受けており、CFR 21 Part 600と医療用具や臨床検査薬の品質管理に関する規定(CFR 21 Part 820)とによって規制されているという見方が主流です。今回の嘆願書は、これが規制廃止になる可能性にも言及しています。現在のエンドトキシン試験は、そのバリデーション方法も確立されてきており、試薬自身に問題がある場合も、これが検出できるようになっています。すなわち、試薬の性能に問題があると、日常試験における規格に入らないという事態が予想されます。この意味からは、もしFDAの規制が無くなったとしても、エンドトキシン試験自体には大きな影響

はないと思われます。また、価格が安いだけで性能の悪い試薬が出てきても、エンドトキシン試験で試験している製品は、試薬よりずっと高価なものですから、結果の信頼性を落とすリスクはとらないでしょう。

Factor Cの活性測定は、これを最初に精製した九州大学のグループが測定しています。しかし、エンドトキシン測定にこの方法は採用されてきませんでした。CAMBREX社の方法が以前の方法より優れているかどうかは、まだ判断できませんが、この製品が市場に出てきたとしても、その性能判定にある程度の時間がかかることは間違いありません。その後、実際に使えるかを判断することになるでしょう。

アメリカのLALメーカーであるEndosafe社は、Endosafe-PTSという製品を発売しています。リムルス試薬を0.025mℓのサンプルと、カートリッジ上の細かい溝中で反応させ、小さい機械でエンドトキシン濃度を測定する製品です。彼らは、使っているリムルス試薬がFDAにライセンスされたものであるから、この製品は、最終製品の試験に使わないかぎり、FDAの認可なしで検査に使えると言っています。

リムルス試薬の将来を考えると、次世代のエンドトキシン試験法が必要になってくると思われれます。今後の流れとして、遺伝子組み換え技術によってリムルス試薬の因子を製造する、現在のリムルス試験の微量化、物理化学的な測定方法の応用などが考えられ、実際にこれらの製品が出ようとしています。しかし、現在のところ、リムルス試薬を越える方法は出ていないように思えます。また、医薬品等のエンドトキシン試験として何か新しい方法が採用されるためには、その有効性を検証するために長い期間が必要です。今後、新技術、当局による規制、製造業者の思惑などが絡み合っ、新しい流れが作られていくことでしょう。現在の状態は、そろそろ次世代のエンドトキシン試験を考える時期に来ているが、その有力な候補はまだ現れていないというのが実情かと思うのですがいかがでしょう。

今回は、第55話「エンドトキシンと添加剤」の予定です。

## 神経科学・精神科学の一層の発展を!

北海道大学大学院薬学研究科 野村 靖幸

神経変性疾患の発症機序に関してゲノム科学や分子生物学、生化学的研究が活発に展開されている。その基本的な機序が解明されるのもそう遠くないと期待されている。一方、躁うつ病、統合失調症等の精神医学領域の難病については、神経変性疾患に関する知見に比べまだ不明な点が多い。精神病態はデリケートな面が多く、疾患発症機序解析も容易でないことによるのかもしれない。これまで、躁うつ病の発症に関し、脳モノアミン系機能異常によるという神経化学的仮説（脳カテコールミンとセロトニンの濃度バランス異常、両系のシナプス伝達機能の異常、モノアミン受容体とシグナリングの異常等の仮説）が提案されてきた。治療薬がこれらの異常を正常化するという薬理学的研究結果も当仮説を支持している。最近、Kakiuchiら<sup>1)</sup>は、1人が双極性障害患者でもう1人は健康人である一卵性双生児のリンパ球を用いて、双極性障害者の転写因子 XBP-1 遺伝子のプロモーター領域に1塩基置換が生ずることにより XBP-1 の発現が低下すること、一方、気分安定薬バルプロ酸がこの XBP-1 発現を

促進することを報告した。一般に一卵性双生児はその遺伝子は同一であると考えられているが、今回、XBP-1 という小胞体 (ER) ストレス応答蛋白質の遺伝子プロモーター領域に変異が見出されたのである。また、ER ストレス応答に関わる XBP-1 レベルの低下が、双極性障害の発症のリスクファクターであると提唱された訳である (図1)。ER が低酸素等のストレスを受け、折りたたみ異常の蛋白質が蓄積したりすると XBP-1 が誘導され、これにより分子シャペロン (ER ストレスに伴う変性蛋白質の再折りたたみに関わる GRP78 等) が誘導される。躁うつ病 (双極性障害) 発症に、環境からのストレスといった要因が関わる事を示唆している。

一方、統合失調症の病態に関して、脳ドパミン D<sub>2</sub> 受容体活性過剰仮説が一般に受け入れられている。この度、一卵性双生児のリンパ球を使用し、双子のうちの健常者に比較し、統合失調症発症者では、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体の遺伝子プロモーターの DNA (シトシン) のメチル化の程度が低下していることが報告された<sup>2)</sup>。DNA のメチル化の程度

が低下すると DNA-ヒストン複合体を構成するヒストンアセチル化酵素活性が上昇し、ヒストンがアセチル化されクロマチン構造がゆるみ、その結果 RNA ポリメラーゼが結合・作用しやすくなり転写が促進し、D<sub>2</sub> 受容体発現が高まると説明されている (図1)。この報告は統合失調症発症の原因が、D<sub>2</sub> 受容体遺伝子の塩基配列の差でなく、DNA メチル化の程度の差という epigenetic (後生的) な差によることを示唆している。がん、心疾患、気管支喘息、糖尿病等の生活習慣病に epigenetic な要因が関与する可能性も論じられていることを考えると興味深い。

「脳科学一口メモ」は、1999年4月号掲載分を第1回として、これまで (今回も加え) 計20回にわたり掲載させて頂いた。この企画では、進展の著しい生命科学の中で21世紀に発展の期待される脳科学のトピックスの最近の成果と問題点、今後の展望等について、当該課題に取り組んでいる第一線の研究者に解説して頂いた。取り扱ったテーマは、記憶・学習、老化、痴呆、アルツハイマー病、パーキンソン病、精神疾患、スト

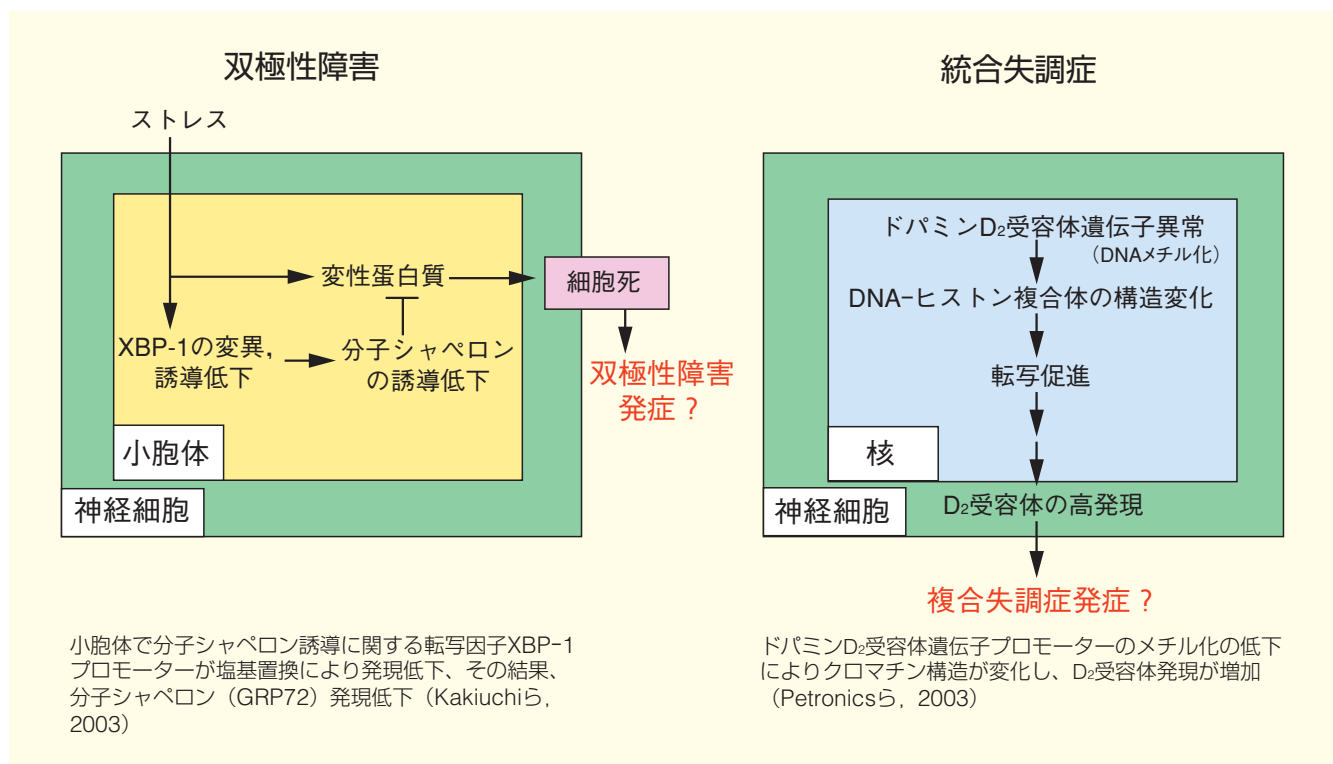


図1. 双極性障害と統合失調症発症機序についての仮説<sup>1,2)</sup>

レス、及び神経免疫内分泌相関等、多岐にわたる。また、生理学、生化学、分子生物学、ゲノム科学、組織学、薬理学、行動科学、さらに心理学等、関連分野も広くカバーされたといえる。この「脳科学一コマ」が、日夜発展する脳科学理解の一助となり、また今後の新たな研究展開に少しでも示唆を与えることができたとすれば、この「脳科学一

コマ」をシリーズで企画・編集させて頂いた者としては幸いである。最後に、ご多忙の中、執筆いただいた諸先生、さらに終始ご支援頂いた和光純薬工業（株）試薬化成品事業部の岸井松司氏、及び大西礼子氏に深謝したい。

【参考文献】

- 1) Kakiuchi, C. et al.: *Nature Genetics Published online*, 31 August (2003).
- 2) Petronics, A. et al.: *Schizophrenia Bulletin*, 29 (1), 169 (2003).



# Information

## トライアルサンプル準備しました!

### NO測定・除去用試薬 NO還元酵素 (P450nor)

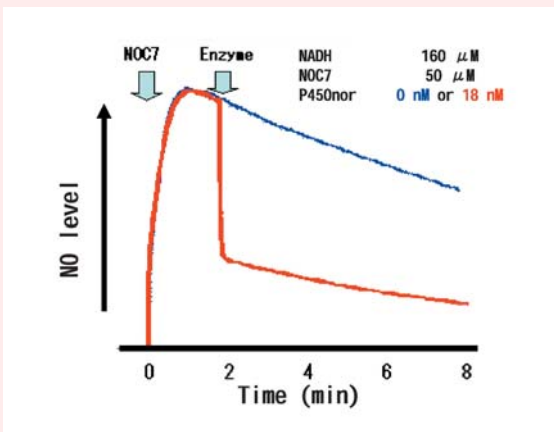
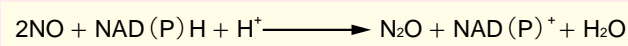


P450norは、モノオキシゲナーゼとしてではなく、NOをN<sub>2</sub>Oに還元するレダクターゼとして働くユニークなP450酵素です。ヘモグロビン法のように前処理を必要とせず、好気的な実験環境下でNO還元反応を行うことができます。この他、NAD(P)Hの減少、N<sub>2</sub>Oガス発生をモニタリングすることでNO測定することができます。NOとの結合速度定数はPTIOなどのNOトラップ剤に比べ非常に速くなっています。NO測定、NO除去に使用できます。

発売に先立ち、トライアルサンプルを準備しました。

- 起 源: *Aspergillus oryzae*
- 形 状: 液状(凍結品)
- 分子量: 45,600
- 最適pH: 5.5~7.2
- 熱安定性: T<sub>50</sub>=53.9
- 等電点: 5.44
- 活 性: 43,000 mol NO/min/mol enzyme以上 (37°C, pH 7.2)
- k<sub>rea</sub>: 1.5×10<sup>7</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>

### 酵素活性測定原理



瞬間的なNO除去反応

ご希望の方は、当社代理店／営業担当者もしくは下記までご請求下さい。

和光純薬工業（株）試薬開発部 サンプル係  
 FAX : 06-6201-5965  
 E-mail : tanabashi.shinji@wako-chem.co.jp

## ダイオキシン類分析の前処理に Wako プレセップ®活性炭埋蔵シリカゲル(リバースカラム)

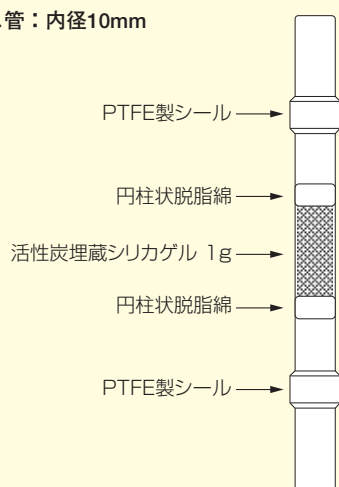
ご好評いただいております活性炭埋蔵シリカゲルを、ガラス製の単管に充てんしたカラムです。本品は、“逆溶出法”(バックフラッシュ法)で使用することにより、溶媒使用量の低減と、前処理作業時間の短縮が可能になります。

### 特長

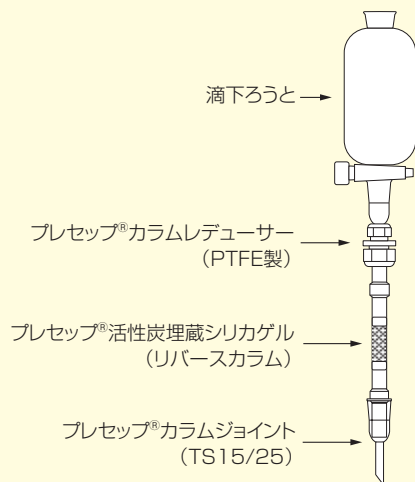
- **ダイオキシン類分析適合性試験を実施**  
ダイオキシン類のブランクを、高分解能GC-MSにより保証
- **個別アルミパック包装を採用**  
必要な個数だけ使用可能
- **溶離液の使用量が低減**  
逆溶出法での使用により、溶媒使用量が低減

### カラムの構成

ガラス管：内径10mm



### 使用例

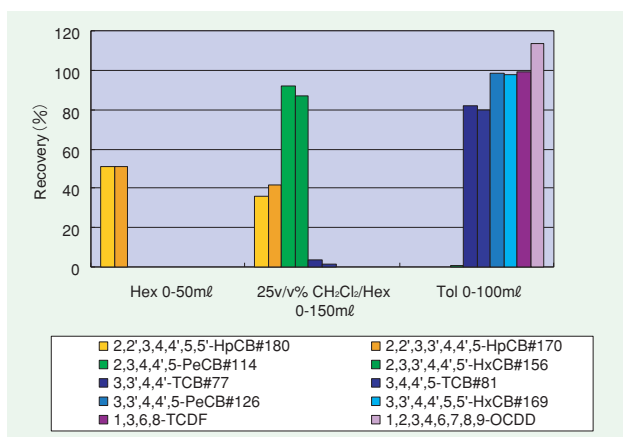


### ダイオキシン類分析適合性試験

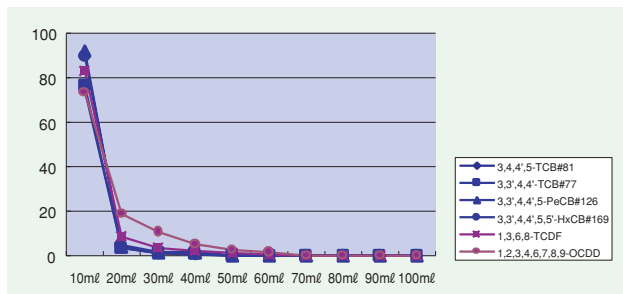
ジベンゾ- <i>p</i> -ジオキシン	規格値	ジベンゾ- <i>p</i> -フラン	規格値	Co-PCB	規格値
TeCDDs	1 ↓	TeCDFs	1 ↓	TeCBs	10 ↓
PeCDDs	1 ↓	PeCDFs	1 ↓	PeCBs	10 ↓
HxCDDs	1 ↓	HxCDFs	1 ↓	HxCDBs	10 ↓
HpCDDs	5 ↓	HpCDFs	5 ↓	HpCDBs	5 ↓
OCDD	5 ↓	OCDF	5 ↓		

(単位:pg/本)

### 分画性能試験 (参考データ)



### 【トルエン分画でのダイオキシンとノンオルト体Co-PCBの溶出】



#### (分画試験条件)

- 1) 試料1ml (Co-PCB14種各10ng/ml、1,3,6,8-TCDF及びOCDD各15ng/ml (ヘキサン溶液)を本品の上層にチャージする。
- 2) ガラス管の壁面を少量のヘキサン(約0.5ml)で洗浄後、10分間静置する。
- 3) ヘキサン50ml、25v/v% ジクロロメタン/ヘキサン150ml で溶出する。(ジオルト体及びモノルト体Co-PCBの分取)
- 4) カラムを反転させた後、さらにトルエン100ml (10ml ずつ10画分分取)で溶出する。(ノンオルト体Co-PCB及びダイオキシンの分取)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-43051	Presep® Active Carbon-impregnated Silica Gel (Reverse Column)	ダイオキシン類分析用	5本	13,000
295-42751	Presep® Column Reducer (PTFE)	-	1個	6,300
291-42851	Presep® Column Joint (TS15/25)	-	1個	3,500
297-42951	Presep® Column Joint (TS19/38)	-	1個	3,700

## 改正水道法対応 水質分析用試薬



水道法は、平成4年の改正以来10年が経過し、水道水の水質を取り巻く環境も大きく変化した事、また世界保健機構（WHO）での飲料水水質ガイドライン全面改訂などを踏まえ、平成15年5月に水質基準が改定されました。

当社では、この改正に合わせて新たに水質基準に追加された1,4-ジオキサン、臭素酸、総有機炭素などの各種標準液及び、試験方法が変更された濁度、陰イオン界面活性剤などの各種標準液を追加発売しました。

### 誘導結合プラズマ発光分光分析装置による 一斉分析用 金属類混合標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
139-14551	Multielement Standard Solution W-VI 混合元素種 (mg/l in 0.1mol/l HNO <sub>3</sub> ) Al:100, B:100, Ca:100, Cd:100, Cr:100, Cu:100, Fe:100, Mg:100, Mn:100, Na:100, Pb:100, Zn:100	ICP分析用	50ml	12,000

### イオンクロマトグラフ(陽イオン類)一斉分析用 陽イオン混合標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
136-14561	Multication Standard Solution I 混合陽イオン種 (mg/l in 0.02mol/l HNO <sub>3</sub> ) Ca <sup>2+</sup> :100, Mg <sup>2+</sup> :100, Na <sup>+</sup> :100	イオン クロマト グラフ用	50ml	5,500

### 1,4-ジオキサン試験用 標準液(水質基準追加項目)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
042-29021	1,4-Dioxane- <i>d</i> <sub>8</sub> Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,800
049-28791	1,4-Dioxane Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	2ml × 10A	8,400

### 臭素酸試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-15091	Bromate Ion Standard Solution (BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :2,000mg/l in Water)	イオン クロマト グラフ用	50ml	4,000

### 揮発性有機化合物試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-15021	<i>p</i> -Bromofluorobenzene-Fluorobenzene Mixture Standard Solution (each 1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,500
069-04471	Fluorobenzene Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,000

### ハロ酢酸試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
203-15981	1,2,3-Trichloropropane Standard Solution (1mg/ml <i>t</i> -Butyl Methyl Ether Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,500

### ホルムアルデヒド試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
034-19031	1-Chlorodecane Standard Solution (1mg/ml Hexane Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,000

### 陰イオン界面活性剤試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
195-13111	Sodium Decylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
192-13121	Sodium Undecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
199-13131	Sodium Dodecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
196-13141	Sodium Tridecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
193-13151	Sodium Tetradecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500

### フェノール類試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
030-19251	5 Chlorinated Phenols Mixture Standard Solution (each 1mg/ml Acetone Solution) 内容:2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、 2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロ フェノール、2,4,6-トリクロロフェノール	水質試験用	1ml × 5A	8,000
166-21291	Phenol Standard Solution (1mg/ml Water Solution)	水質試験用	1ml × 5A	5,400

### フェノール類試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-19881	Acenaphthene- <i>d</i> <sub>10</sub> Standard Solution (1mg/ml Acetone Solution)	水質試験用	1ml × 5A	8,000

### 総有機炭素試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
167-21341	Potassium Hydrogen Phthalate Standard Solution (as C:1mg/ml Water Solution)	水質試験用	50ml	4,000

### 濁度試験用 ポリスチレン系 標準液

コードNo.	品名	メーカー名	容量	希望納入価格(円)
639-04471	Turbidity Standard Solution (Polystyrene) 100	JSR(株)	100ml	15,000

## 検水100ml中の大腸菌と大腸菌群を24時間で検出

ELMEX

### アクアテストII ATB-100

ピルビン酸添加X-GAL・MUG培地

#### 水質基準が改定!

2004年4月1日に改定される水道法では検水100ml中に大腸菌が検出されない事、となっておりその際使用する培地はピルビン酸添加X-GAL/MUG培地が認定されています。



#### 特長

- 試験管は要りません  
樹脂製バッグに、調製済粉末培地が密封されています。バッグを開封して、検水を入れるだけで検査が開始できます。面倒な前準備や後作業が無いので、省力効果は抜群です。
- 目視判定が容易  
樹脂製ボトルや試験管に比べて、発色と蛍光発光が明瞭に観察できます。
- 使う人の身になった設計  
培養後はバッグごとオートクレーブ滅菌し、そのまま廃棄ができます。保管場所も、驚くほど省スペースで済みます。



蛍光発光  
(E.coli 陽性)

青色発色  
(大腸菌群陽性)

変色無し  
(陰性)

#### 組成

ペプトン	5.0g	りん酸水素二カリウム	4.0g
塩化ナトリウム	5.0g	りん酸二水素ナトリウム	1.0g
硝酸カリウム	1.0g	X-Gal	0.10g
ピルビン酸ナトリウム	1.0g	MUG	0.10g
ラウリル硫酸ナトリウム	0.10g	IPTG	0.10g

当組成は、2001年改訂上水試験法の糞便性指標である大腸菌群及び大腸菌の試験方法として記載された特定酵素基質培地法に基づくものです。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
304-14401	ATB-100	AquaTest II ATB-100	(100ml用×5バッグ)×20	30,000

#### 関連商品

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
306-14581	ATB-100C	AquaTest II ATB-100用コンパレータ	1本	3,000
309-09441	BL-02	ミニブラックライト蛍光灯	1台	5,600
300-09471	BL4BLB	ミニブラックライト用交換用蛍光灯	1本	1,700
304-13421	PXR-01	収納ラック	1ラック	5,000

#### ■50ml用のバックタイプ及び10ml用の試験管タイプ

308-13201	ATB-50	AquaTest II ATB-50	(50ml用×5バッグ)×20	25,000
307-13411	ATB-50C	AquaTest II ATB-50用コンパレータ	1本	2,000
307-14251	AT II -10	AquaTest II AT-10	10ml×200本	28,000

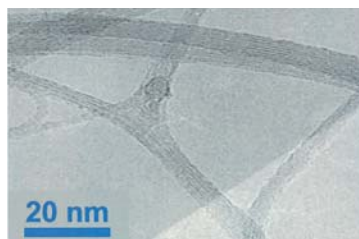
## 新素材

株式会社ワコーケミカル

### カーボンナノチューブ

炭素だけでできた結晶性巨大分子のカーボンナノチューブは非常に注目されており、新しい用途、特に電子材料関係の応用が期待されています。単層及び多層のカーボンナノチューブを多種類揃えています。また、別容量のご注文もお受けできますので、お問合せ下さい。

	外径 (nm)	内径 (nm)	壁厚 (nm)	長さ (μm)	純度
Single-walled, 1~2nm	1-2	—	—	0.2-100	90%以上
Multi-walled, 3~10nm	3-10	1-3	—	0.1-10	80%以上
Multi-walled, 10~30nm	10-30	3-10	—	1-10	80%以上
Multi-walled, 20~30nm	20-30	—	1-2	0.5-2	95%以上
Multi-walled, 20~50nm	20-50	—	1-2	0.5-2	95%以上
Multi-walled, 40~70nm	40-70	5-40	—	0.5-2	95%以上
Multi-walled, 85~200nm	85-200	5-10	—	0.5-10	95%以上



Carbon Nanotube, Single-walled, 1~2nm  
電子顕微鏡像 (HRTEM)

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
324-63071	Carbon Nanotube, Single-walled, 1~2nm	250mg	17,000
323-43381	Carbon Nanotube, Multi-walled, 3~10nm	1g	10,000
329-43383		5g	35,000
320-43391	Carbon Nanotube, Multi-walled, 10~30nm	1g	10,000
326-43393		5g	35,000
323-43401	Carbon Nanotube, Multi-walled, 20~30nm	1g	10,000
329-43403		5g	35,000
320-43411	Carbon Nanotube, Multi-walled, 20~50nm	1g	10,000
326-43413		5g	35,000
327-43421	Carbon Nanotube, Multi-walled, 40~70nm	1g	10,000
323-43423		5g	35,000
327-63061	Carbon Nanotube, Multi-walled, 85~200nm	1g	8,000
323-63063		5g	28,000

## エンドファイトトキシシン ロリトレムB



日本は牛や競走馬などの飼料として年間数十万トンもの牧草を輸入しています。これらの牧草に寄生する真菌（エンドファイト）が産生する神経毒素（エンドファイトトキシシン）が問題になっています。

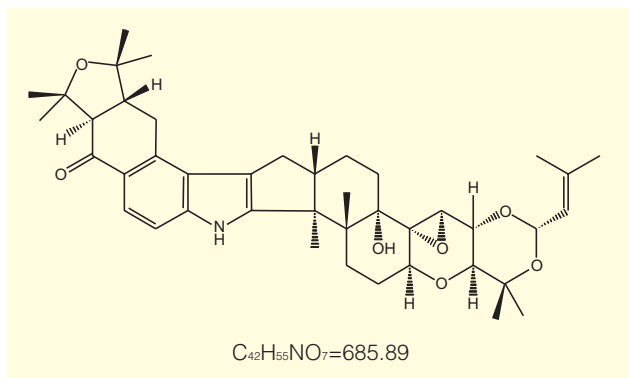
ロリトレムBは、主にイネ科牧草などに寄生もしくは共生する真菌が産生するエンドファイトトキシシンのひとつで、この菌に汚染された牧草を牛が摂取するとふらつき、筋肉の攣縮、起立障害、痙攣などのBSE様の症状を引き起こすことが知られています。

薬理的特長は、

- 1) Caイオンチャンネルに作用し痙攣誘発の可能性
- 2) GABAを放出させる可能性
- 3) ロリトレムBを1,800ppb以上含む飼料を牛に与えると中毒症が生じる

など報告されています<sup>2, 3)</sup>。

ロリトレムBは畜産局長通達「飼料分析基準」により分析法と基準値が定められています。（基準値1,800ppb<sup>1)</sup>）



CAS No. : 81771-19-9

ジクロロメタン溶状：澄明

含量 (HPLC) : 98%以上

### 〔参考文献〕

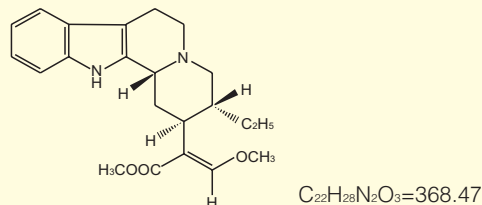
- 1) 畜産局長通達「飼料分析基準」, 2001年1月.
- 2) Hawkes, Allan. D. et al.: *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1283 (1995).
- 3) Pirelli, G. et al.: "Endophyte toxins in grass seed field and straw", (1995).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
122-05071	Lolitre B	エンドファイトトキシシン試験用	1.3μg	40,000

## 局方対応の生薬標準品 ヒルスチン標準品



生薬チョウトウコウより分離精製されたアルカロイドです。



起 源 : *Uncaria rhynchophylla* Miquel, *Uncaria sinensis* Haviland, *Uncaria macrophylla* Wallich (Rubiaceae)

化学名 : (3β,16E)-16,17-Didehydro-17-methoxycorynan-16-carboxylic acid methyl ester

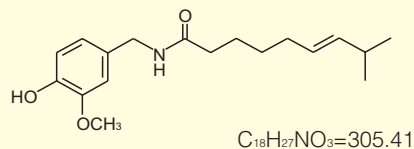
CAS No. : 7729-23-9

メタノール溶状 : 澄明

含量 (HPLC) : 98.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
082-08081	Hirsutine Standard	生薬試験用	5mg	35,000

## カプサイシン標準品



起 源 : *Capsicum annuum* Linné

化学名 : N-[(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) methyl]-8-methyl-6-nonenamide

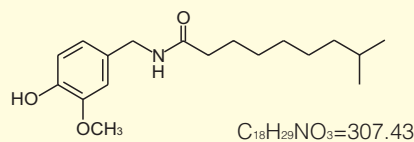
CAS No. : 404-86-4

メタノール溶状 : 澄明

含量 (HPLC) : 99.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
039-18981	Capsaicin Standard	生薬試験用	20mg	25,000

## ジヒドロカプサイシン標準品



起 源 : *Capsicum annuum* Linné

化学名 : 8-Methyl-N-vanillylnonanamide

CAS No. : 19408-84-5

メタノール溶状 : 澄明

含量 (HPLC) : 99.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
045-28911	Dihydrocapsaicin Standard	生薬試験用	20mg	32,000

## アルカリホスファターゼ 活性測定キット



### ラボアッセイ™ ALP

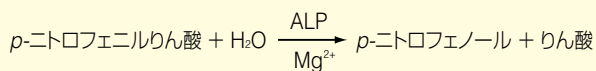
アルカリホスファターゼ (ALP) は肝臓をはじめ、骨、小腸などに分布しているホスホモノエステラーゼでアルカリ性に最適pHをもちます。血清中のALP活性の上昇は肝・胆道、骨病態に関連しますが、特に骨代謝の研究分野では、骨芽細胞の分化段階で発現するマーカーの一つであることから、骨形成マーカーとしてその組織学的、生化学的検出が行われています。一般に骨芽細胞培養上清、実験動物血清を検体とした測定には、少量・多検体同時処理のためマイクロプレートリーダーが汎用されています。本品はこのような測定法に適したALP活性測定キットです。

#### キット内容

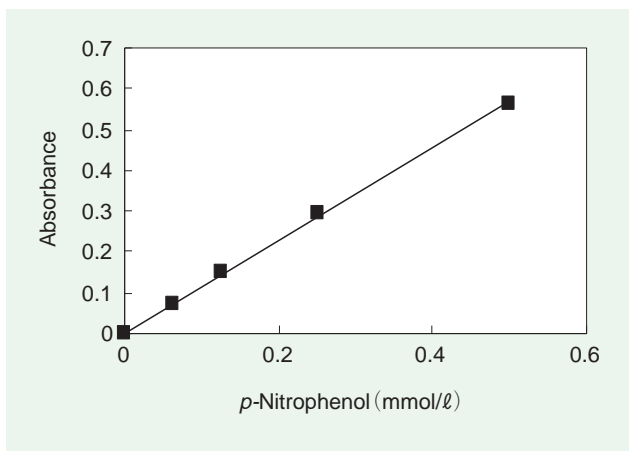
- 基質錠 20錠  
(溶解時 *p*-ニトロフェニルりん酸二ナトリウム 6.7mmol/ℓ)
- 基質溶解液 100ml  
(2.0mmol/ℓ 塩化マグネシウム含有 0.1mol/ℓ 炭酸塩緩衝液 pH 9.8)
- 反応停止液 100ml  
(0.2mol/ℓ 水酸化ナトリウム溶液)
- 標準液 10ml  
(0.5mmol/ℓ *p*-ニトロフェノール溶液)

#### 測定原理

*p*-ニトロフェニルりん酸を含む炭酸塩緩衝液 (pH 9.8) 中で検体を作作用させると、検体中のアルカリホスファターゼにより *p*-ニトロフェニルりん酸は *p*-ニトロフェノールとりん酸に分解され、生成した *p*-ニトロフェノールはアルカリ性側で黄色を呈します。この405nmの吸光度を測定することにより検体中のアルカリホスファターゼ活性値を求めます。



#### 標準曲線



使用マイクロプレートリーダー：サファイア (TECAN Austria GmbH)

#### 性能

測定範囲：>0.06mmol/ℓ

標準曲線範囲：0~0.5mmol/ℓ

(0.5mmol/ℓ以上の直線性も確認していますので外挿して求めることができます。)

再現性：C.V.<10%

#### 【参考文献】

1) Yamamoto, M., Takahashi, Y., Tabata, Y.: *Biomaterials*, 24(24), 4375 (2003).

(注) 本品は体外診断用としては使用できません。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-58601	LabAssay™ ALP	細胞生物学用	900回用	15,000

## サイトカイン類 3品目追加

### BMPアンタゴニスト ノギン, ヒト, 組換え体

ノギンはBMP (Bone Morphogenetic Protein) アンタゴニストの一つで、BMP受容体に競合してBMP活性を制御し、広くは発生学において背腹軸の形成に関与しています。また、神経誘導因子として未分化の外胚葉細胞に作用させると中枢神経系細胞を分化誘導することが知られています。

起源：Human noggin cDNA expressed in *E.coli*

活性：ED<sub>50</sub>=0.05~0.08μg/ml

(5.0ng/mlのBMP-4によるATDC-5軟骨様細胞へのアルカリホスファターゼ誘導阻害作用)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
146-07771	Noggin, Human, recombinant [rhNoggin]	細胞生物学用	20μg	39,000

### ヘッジホッグファミリー

#### ソニックヘッジホッグ, ヒト, 組換え体

ヘッジホッグファミリー (Shh, Ihh, Dhh) の一つで、体軸の左右や肢芽の前後軸の決定など、形態形成に関与するサイトカインです。

起源：Human sonic hedgehog cDNA expressed in *E.coli*

活性：未試験

分子量：19,600

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
199-12891	Sonic Hedgehog, Human, recombinant [rhShh]	細胞生物学用	25μg	39,000



## 軟骨細胞分化制御因子



### 副甲状腺ホルモン関連タンパク質, ヒト, 組換え体

PTH(副甲状腺ホルモン)と相同なN末端アミノ酸配列を有し、その部分でPTH類似作用を示します。さらに軟骨細胞成熟阻害物質として知られ、その作用機序は前肥大軟骨細胞に発現しているPTHrP(副甲状腺ホルモン関連タンパク質)レセプターを介して軟骨細胞分化を制御します。

起 源: Human parathyroid hormone related protein cDNA expressed in *E. coli*

活 性: 未試験

分子量: 9,800

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
165-21141	Parathyroid Hormone Related Protein, Human, recombinant [rhPTHrP]	細胞生物学用	50 $\mu$ g	39,000

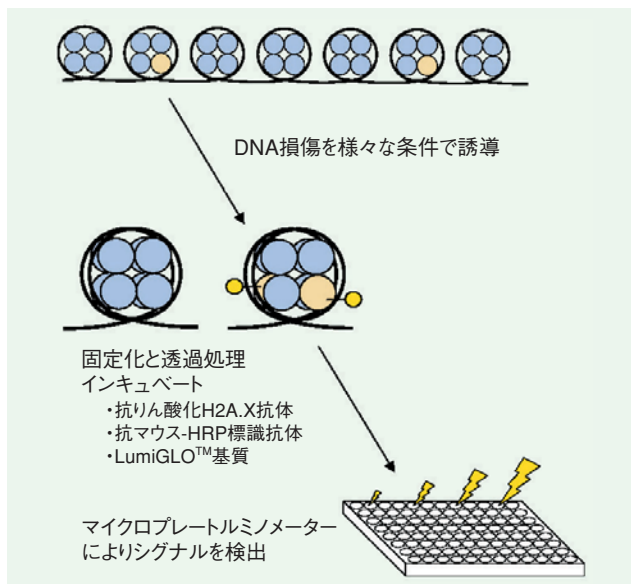
## DNA損傷の検出に!!



### H2A.X Phosphorylation Assay Kit

H2A.Xはヒストンコアを構成するヒストンタンパク質の一つであるH2Aのサブタイプで、全ヒストンの数%を占めるといわれています。このヒストンH2A.Xタンパク質はヒストンH2Aファミリーの中でも、そのユニークなC末端配列により、他のH2Aヒストンサブタイプと区別されます。このユニークな配列は真核生物において高く保存されており、DNA二本鎖切断(DBS)反応においてC末端から4番目のアミノ酸が(哺乳類においてSer139)速やかにリン酸化されます。DNA損傷時には非常に早い時期に起こる反応であり、放射線(Ionizing Radiation)照射後、1分もかからないうちに起こると報告されています<sup>1)</sup>。

本品は細胞ベースELISAキットです。マイクロプレート細胞培養中のリン酸化されたH2A.Xを速く、簡易に測定するために開発されました。



接着細胞が培養されたマイクロプレートが含まれており、これをDNA損傷/H2A.Xリン酸化を誘導する試薬などで処理した後、固定化と透過処理を行います。セリン139でリン酸化されたヒストンH2A.Xが抗リン酸化H2A.X (Ser139)抗体と抗マウスIgG-HRP標識抗体を用いて発光検出をします。

### キット内容

- Black View 96-well Cell Culture Plates 2plates
- 20% Tween-20™ (v/v) 3mℓ
- Anti Mouse IgG Antibody, HRP conjugate 10 $\mu$ g
- 20× TBS 50mℓ
- Anti Phospho Histone H2A.X (Ser 139), clone JBW301 200 $\mu$ g
- 10% BSA in TBS (Blocking Buffer) 25mℓ
- LumiGLO™ Chemiluminescent Substrate Reagent A 10mℓ
- LumiGLO™ Chemiluminescent Substrate Reagent B 10mℓ

### 【参考文献】

1) Rogakou, E. P. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 273, 5858 (1998).

コードNo.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
562-56661	17-327A	H2A.X Phosphorylation Assay Kit (Chemiluminescence Detection)	1Kit	120,000

### 関連商品

コードNo.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
—	07-376	Anti-acetyl-Histone H2A	100 $\mu$ ℓ	56,900
—	07-290	Anti-acetyl-Histone H2A (Lys5)	100 $\mu$ ℓ	56,900
—	07-386	Anti-acetyl-Histone H2A (Lys7), ChIP Grade	100 $\mu$ ℓ	56,900
—	07-289	Anti-acetyl-Histone H2A (Lys9)	200 $\mu$ ℓ	58,900
564-54661	07-146	Anti-Histone H2A (acidic patch)	200 $\mu$ ℓ	59,100
562-56161	07-219	Anti-Histone macroH2A1	200 $\mu$ ℓ	49,000
560-52821	07-164	Anti-phospho-H2A.X (Ser139)	200 $\mu$ g	59,000
569-56171	05-636	Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139), clone JBW301	200 $\mu$ g	57,000
—	05-678	Anti-ubiquityl-Histone H2A, clone E6C5	200 $\mu$ ℓ	58,900
568-56641	16-193	Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139), clone JBW301, biotin conjugate	100 $\mu$ g	64,900
569-55711	14-409	Histone H2A	100 $\mu$ g	59,100
565-56651	14-493	Histone H2A, Human	100 $\mu$ g	59,100
563-56071	12-406	Histone H2A Peptide, biotinylated	100 $\mu$ g	29,100

## マグネシウムイオン検出用 蛍光プローブ

Wako

### KMG-20-AM

Mg<sup>2+</sup>は、必須元素であり、筋肉の収縮やホルモンの分泌など様々な機能が知られていますが、既存のMg<sup>2+</sup>プローブを用いても生体中に存在するCa<sup>2+</sup>の影響により正確にMg<sup>2+</sup>を検出することはできませんでした。一方、これに対し『KMG-20-AM』は、Ca<sup>2+</sup>との反応性が低く抑えられているため、Mg<sup>2+</sup>に対する選択性が非常に高くなっています。従って、『KMG-20-AM』はMg<sup>2+</sup>とだけ反応し蛍光を発するため、従来不可能であったMg<sup>2+</sup>の可視化を蛍光顕微鏡で簡便に行うことができます。さらに細胞膜を容易に通過することから、細胞内Mg<sup>2+</sup>の可視化、イメージングを行うことができます。今後、『KMG-20-AM』を用いた研究によりMg<sup>2+</sup>の機能及びMg<sup>2+</sup>の関与する疾患の解明が期待されます。

### 特長

- Ca<sup>2+</sup>の影響を受けずMg<sup>2+</sup>の検出が可能
- 蛍光顕微鏡で容易に観察が可能
- 生細胞中のMg<sup>2+</sup>のイメージングが可能

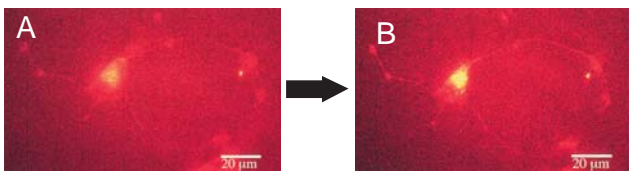


図. カリウムイオン添加前後の蛍光顕微鏡像

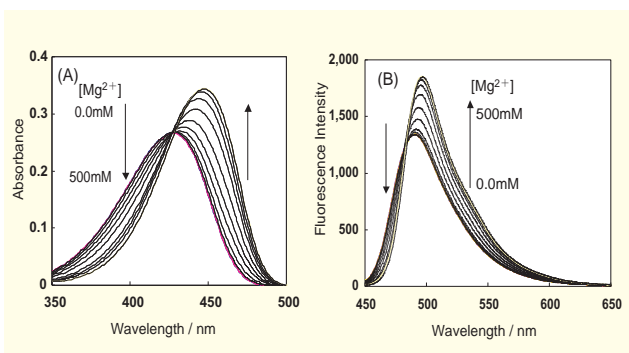
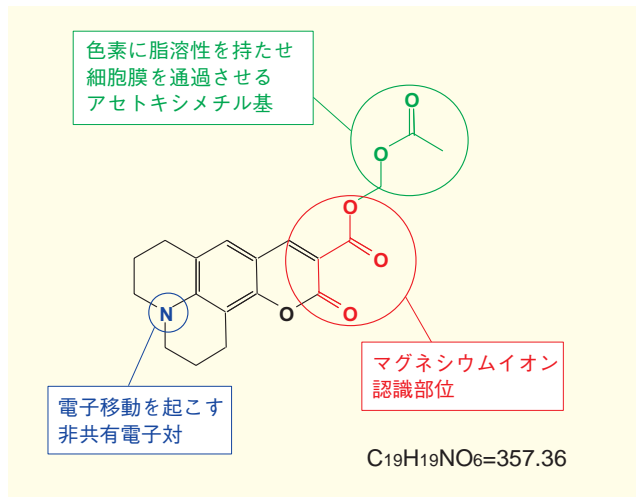


図. Mg<sup>2+</sup>添加前後のKMG-20-AMの吸収スペクトル(A)と蛍光スペクトル(B)

### 規格

形状：褐色粉末  
 含量(HPLC)：95%以上  
 $\lambda_{ex/em}$ ：440nm/500~530nm  
 錯形成定数：Kd(Mg) 0.01M  
 Kd(Ca) 0.03M



### 〔参考文献〕

- 1) Suzuki, Y. *et al.* : *Anal. Chem.*, 74, 1423 (2002).
- 2) Kubota, T. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 303, 332 (2003).
- 3) 鈴木祥夫、岡浩太郎、鈴木孝治：和光純薬時報, Vol.71, No.3, p.2 (2003).

本品は、神奈川県地域結集型共同研究事業による研究成果に基づき製造されたものです。

データ提供：(財)神奈川科学技術アカデミー

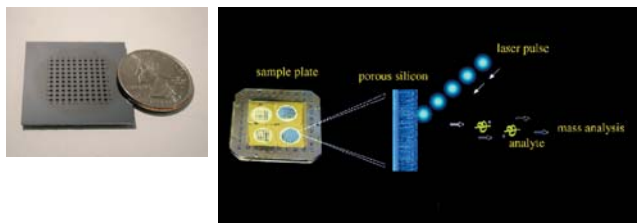
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
110-00711	KMG-20-AM	細胞生物学用	1mg	10,000
116-00713			5mg	40,000

## マトリックスなしでタンパク質のMS分析できるプレート



### DIOS

DIOSは他の市販の製品に比べて、無添加のままタンパク質の質量分析ができる画期的な性能をもっています。従来は、無機金属(コバルトなど)の添加が必要で混入される添加物は、不要な測定ピークが発生して問題でした。DIOSはこれを解決したもので、表面の特殊なシリカの効果により、タンパク質のレーザー照射による分析が無添加で実施できます。



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
573-78731	00P2	DIOS	1枚	30,000

## プロテオーム研究用



### リシルエンドペプチダーゼ、質量分析グレード トリプシン、ブタ膵臓由来、質量分析グレード

プロテオーム解析において、質量分析はタンパク質の同定や翻訳後修飾に関する情報を得る手法の一つです。質量分析を行うには、電気泳動後のゲルより目的タンパク質を切り出し、酵素処理し、ペプチド断片にする必要があります。

本品は、使用頻度の高いタンパク質分解酵素であるトリプシンとリシルエンドペプチダーゼを質量分析の前処理用として使い易い容量に微量小分けした凍結乾燥品です。



### 特長

- リシルエンドペプチダーゼは、タンパク質の切断部位を特異的かつ効率的に分解でき、ペプチド質量によるデータベース検索が容易になる。
- リシルエンドペプチダーゼとトリプシンと併用することにより、リン残基における切断の確実性が増し、得られるペプチド数が増加する。
- 自己消化が非常に少ない。
- 使用量に応じて微量小分けされている。

### トリプシン (Tp)、リシルエンドペプチダーゼ (Lep) 及びこれらを併用した場合の比較

SDS-PAGE後のBSAバンド(100ng)をトリプシン、リシルエンドペプチダーゼ及びこれらの併用によってゲル内消化し、MALDI-TOF-MS装置で質量分析した。Figureではそのマススペクトル、Tableではその評価を示した。

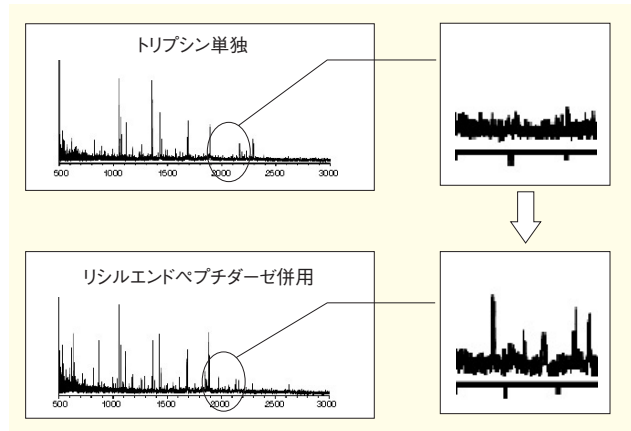


Figure. Tp単独とTpとLepを併用した場合のマススペクトル  
TpとLepの併用では、Tp単独では得られないピークが、m/z 2,000付近に得られました。これはペプチドの回収率が上がったことを示します。

Table. TpとLep及びこれらを併用した場合の比較

Lep単独使用では、missed cleavageがほとんどないことがわかります。TpとLepの併用では、Tp単独と比較してmissed cleavageが減少し、同定できたペプチド数が増加しています。

	Tp	Lep	TpとLepの併用
切断部位	Arg,LysのC末端	LysのC末端	Arg,LysのC末端
missed cleavage (切れ残ったペプチドの割合)*	多い (8%)	ほとんどない (0%)	少ない (3%)
同定できたペプチド数	17	19	22

\*missed cleavage 1でデータベース検索した時のcoverage (得られたペプチドが配列全体に占める割合)からmissed cleavage 0で検索した時のcoverageを引いた値。

(データ提供:大阪府立母子医療センター 和田芳直先生)

### 【参考文献】

- 1) Wada, Y. and Kadoya, M.: *J. Mass Spectrom.*, 38, 117 (2003).
- 2) Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O. and Mann, M.: *Anal. Chem.*, 68, 850 (1996).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
125-05061	Lysyl Endopeptidase, Mass Spectrometry Grade	プロテオーム研究用	20 $\mu$ g $\times$ 5本	15,000
202-15951	Trypsin, from Porcine Pancreas, Mass Spectrometry Grade	プロテオーム研究用	20 $\mu$ g $\times$ 5本	15,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	電気泳動用	20回用	11,000
299-58901	Silver Gel Stain MS Kit	電気泳動用	20枚用	19,000

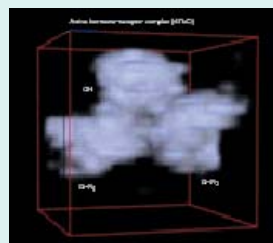
## Sidec Technologies社 タンパク質構造解析受託分析サービス



### 特長

- 結晶化不要で構造解析を行います。
- 試料は溶液またはパウダー

サイデックテクノロジー社は、スウェーデンの国立カロリンスカ研究所で開発された技術を元に商業ベースで分析受託サービスを行っています。溶液状態でタンパク質の立体構造を明らかにするもので注目されています。結晶化困難の対象に対して溶液での3次元構造画像を提供します。



活性化したホルモンレセプター複合体の実現3次元画像の一部

詳細は、当社営業担当者までお問合せ下さい。

## 安定性、再現性の良い 低コストプレキャストゲル



### SuperSep™

本品は、タンパク質、核酸の電気泳動用ポリアクリルアミドプレキャストゲルです。ゲル中には、SDSが含まれておりませんが、SDSを含む緩衝液を用いることにより、SDS-PAGEに使用できます。また、SDS不含の緩衝液を用いることによりNative-PAGEにも使用できます。



### 特長

- 濃縮ゲルにより、シャープなバンドが得られます。
- 再現良く泳動できます。
- 保存安定性が良く、製造日から6ヶ月使用できます。
- 17ウェルは8連ピペットに対応しており、多検体処理に有効です。
- SDS-PAGE、Native-PAGEに使用できます。

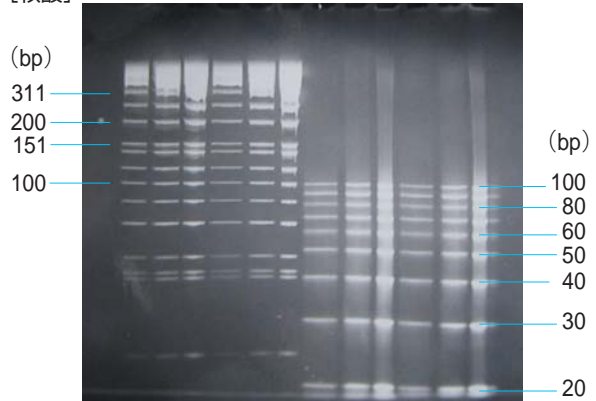
### 泳動例

[タンパク質]



ゲル：SuperSep™ 5-20%, 12well [コードNo.194-12961]  
 サンプルバッファー：Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME+) [コードNo.196-11022]  
 泳動バッファー：Running Buffer Soln. (×10) [コードNo.184-01291]  
 染色：Quick CBB [コードNo.299-50101]  
 サンプル：Lane1, 2, 7, 8 ラダーマーカー  
 Lane3, 4, 9, 10 低分子量マーカー  
 Lane5, 6, 11, 12 高分子量マーカー

[核酸]



ゲル：SuperSep™ 15%, 12well [コードNo.194-13061]  
 サンプルバッファー：5mmol/l Tris (pH 7.9), 1mmol/l EDTA, 30% Sucrose, 0.004% BPB  
 泳動バッファー：0.025mol/l Tris, 1.92mol/l Glycine  
 染色：臭化エチジウム  
 サンプル：DNAマーカー

### 分画分子量範囲

	分子量	核酸のbp
SuperSep™ 7.5%	40,000~200,000	100~2,000
SuperSep™ 10%	20,000~130,000	50~500
SuperSep™ 12.5%	14,000~80,000	30~300
SuperSep™ 15%	6,000~60,000	20~300
SuperSep™ 5-20%	10,000~200,000	50~750
SuperSep™ 10-20%	10,000~130,000	50~500

### 保存条件

2~10℃保存(凍結不可)・遮光保存

コードNo.	品名	濃縮ゲル	規格	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSep™ 7.5%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™ 7.5%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™ 10%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™ 12.5%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™ 15%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	18,000
191-13071	SuperSep™ 15%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%, 12well	—	電気泳動用	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™ 5-20%, 17well	—	電気泳動用	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%, 12well	—	電気泳動用	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™ 10-20%, 17well	—	電気泳動用	10枚	12,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
196-11022	Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME+)	電気泳動用	25ml	3,100
193-11032	Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME-)	電気泳動用	25ml	3,100
184-01291	Running Buffer Soln. (×10)	電気泳動用	1ℓ	5,200
299-50101	Quick CBB	電気泳動用	2ℓ用	9,000
299-13841	Silver Stain Kit Wako	電気泳動用	10枚用	9,000
291-50301	Silver Stain II Kit Wako	電気泳動用	10枚用	9,000
299-58901	Silver Stain MS Kit	電気泳動用	20回用	19,000
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	電気泳動用	20回用	11,000

## 分子量マーカー



SDS-PAGE用のタンパク質分子量マーカーです。高分子量タイプと中分子量タイプが安価で新発売となりました。

## 高分子量マーカー

内 容	分子量
— ミオシン	200k
— β-ガラクトシダーゼ	116k
— ウシ血清アルブミン	79k
— アルドラーゼ	42k
— カルボニックアンヒドラーゼ	30k
— ミオグロビン	17k

## 中分子量マーカー

内 容	分子量
— BSA	79k
— アルドラーゼ	42k
— カルボニックアンヒドラーゼ	30k
— トリプシンインヒビター	20k
— リゾチーム	14k

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	電気泳動用	1mℓ用	12,800
131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	電気泳動用	1mℓ用	12,800

## Information

### モニター募集 (先着30名様)



20/20 GeneSystem社のMulti-Replica Blotting Kit-ULTRAのモニターを募集しています。ご使用後、アンケートにお答え頂ける方に1×3-Stack、1キットをご提供させていただきます。

本品は、1枚の電気泳動ゲルから一度に複数のウエスタンブロットング用膜に転写できるキットです。1×3-Stackは3枚転写用です。今回、従来製品の改良品としてULTRAが発売されました。この機会に是非、お試しください。

改良点：①転写されるタンパク質量の膜間差が改善されました。(膜間の差 最大15%)

②膜順にかかわらずらついていたタンパク質量の減少が段階的になりました。

製品の詳細は当社ホームページ ([http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/index\\_elc.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/index_elc.htm))、パンフレットをご覧ください。

対象商品：Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA (1×3-Stack)

- [キット内容]
- Membrane Stack：1×3-Stack
  - Transfer Buffer 5×：1×200ml
  - Reaction Folders：2枚
  - Protein Transfer Control：1バイアル
  - Product Manual：1部



**注意** 製品マニュアルはBioRad製とNovex製タンク式ブロットング装置を使用した転写プロトコルです。他のタイプの装置でもお使い頂けますが、条件検討が必要となる場合があります。セミドライタイプ式のプロトコルも別途ご提供できます。

[通常販売価格]

コードNo.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
576-76401	GS1202	Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA for Protein Gels, 10-Stack	1KIT	26,000
573-76411	GS1204	Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA for Protein Gels, 2×5-Stack	1KIT	28,000
579-75151	GS2031	Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA for Protein Gels, 1×3-Stack	1KIT	10,000
576-75161	GS2032	Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA for Protein Gels, 2×3-Stack	1KIT	15,000
573-75171	GS2033	Multi-Replica Blotting Kit-ULTRA for Protein Gels, 3×3-Stack	1KIT	22,000

### お申し込み方法

当社ホームページ ([http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/index\\_elc.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/index_elc.htm)) より申し込み用紙をプリントアウトして必要事項を記入の上、当社代理店/営業担当者もしくは下記まで送付下さい。

申し込み先：和光純薬工業(株) 試薬海外営業部 マルチレプリカモニター係

FAX：06-6201-5964

E-mail：kamada.hiroko@wako-chem.co.jp

## 蛍光タンパク質発現ベクター EVROGEN

蛍光タンパク質は、タンパク質としての性質と蛍光物質としての性質を合せ持つことで、目的タンパク質の局在や細胞、オルガネラの挙動をリアルタイムに検出する*in vivo*マーカーとして広く使用されています。

Evrogen社では、独自の技術によりクラゲ及びその他の生物由来の新規の緑色 (Green)、黄色 (Yellow)、赤色 (Red) をコードする蛍光タンパク質発現ベクターをラインナップしています。

### 製品内容

形状 : 10mmol/ℓ Tris-HCl (pH 8.0)

濃度 : 0.5μg/μℓ (20μg)

### 各種蛍光タンパク質の特性

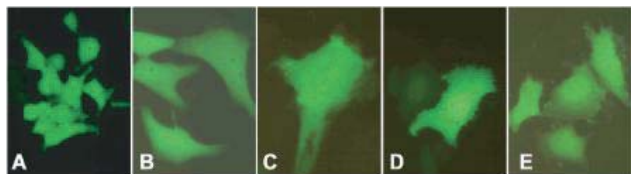
タンパク質	励起波長 (nm)	蛍光波長 (nm)	$\epsilon$ (cm <sup>-1</sup> ·M <sup>-1</sup> ) <sup>※1</sup>	蛍光収率 (φ)	分子量	構造
Ace-Green™	480	505	50,000	0.55	27k	モノマー
Cop-Green™	482	502	70,000	0.60	25k	モノマー
Phi-Yellow™	525	537	130,000	0.40	26k	モノマー
HcRed-Tandem™	590	637	160,000	0.04	52k	非オリゴマー <sup>※2</sup>
Kindling-Red™ (initial)	—	600	123,000	<0.001	26k	テトラマー
Kindling-Red™ (kindled)	580	600	59,000	0.07	26k	テトラマー

※1 : それぞれの最大吸収波長により測定

※2 : HcRed自体は、2量体であるが、タンデムでつなげているため、モノマー様に挙動

## Ace-Green™ Expression vectors

AceGFPは、クラゲである*Aequorea coerulea*由来で、本来は無色である野生型GFP様のタンパク質を変異により増強させた変異体です。enhancedタイプのGFPとほぼ同等の輝度を示します。大腸菌、哺乳細胞、線虫、キイロタマホコリカビ用にコドンをあわせた製品をラインナップしています。



AceGFP発現例

293T細胞 (A)、Vero細胞 (B)、3T3細胞 (C)、L929細胞 (D)、COS細胞 (E)

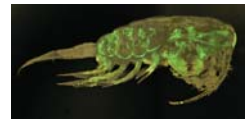
ベクター	コドン	宿主	プロモーター	選択マーカー
pAce-Green™-N1/-N2/-N3	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pAce-Green™-C1/-C2/-C3	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pAce-Green™-B	humanized	細菌	lac	Amp
pAce-Green™-DB	<i>Dictyostelium discoideum</i>	細菌	lac	Amp
pAce-Green™-CB	<i>Caenorhabditis elegans</i>	細菌	lac	Amp

### 【参考文献】

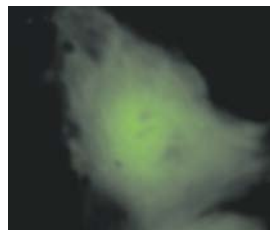
1) Gurskaya, N.G. et al.: *Biochem. J.*, **373**, 403 (2003).

## Cop-Green™ Expression vectors

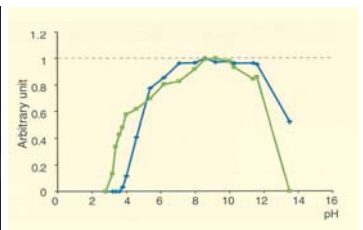
Cop-Green™は、甲殻生物であるCopepod由来の緑色蛍光タンパク質で、刺胞動物以外の生物から初めてクローニングされました。enhancedタイプのGFPより約1.3倍の輝度があります。また、広域のpHで安定であり、細胞内の凝集や細胞毒性がありません。



Copepod



CopGFPの3T3細胞での発現例  
FITCフィルターを用いた蛍光顕微鏡により観察



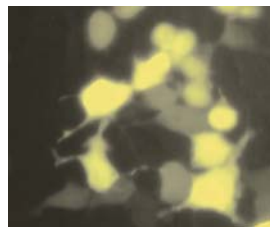
CopGFPのpH安定性

CopGFP (緑)、enhancedタイプのGFP (青)

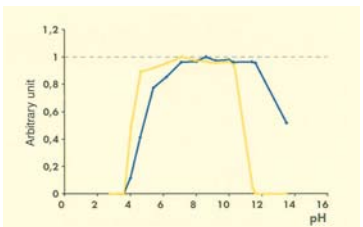
ベクター	コドン	宿主	プロモーター	選択マーカー
pCop-Green™-N	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pCop-Green™-C	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pCop-Green™-B	humanized	細菌	lac	Amp
pCop-Green™-PRL	humanized	哺乳動物	なし	Kan/Neo
pCop-Green™-YB	<i>S. cerevisiae</i>	細菌	lac	Amp

## Phi-Yellow™ Expression vectors

Phi-Yellow™は、実用的な最初のモノマータイプの黄色蛍光タンパク質であり、enhancedタイプのGFPの約1.6倍の輝度があります。蛍光波長が537nmと真の黄色蛍光を示すのが最大の特長です。HcRed-Tandem™との併用で、FRETアッセイにも使用できます。また、広域のpHで安定であり、細胞内の凝集や細胞毒性がありません。



PhiYFPの3T3細胞への一過性の発現例  
FITCフィルターを用いた蛍光顕微鏡により観察



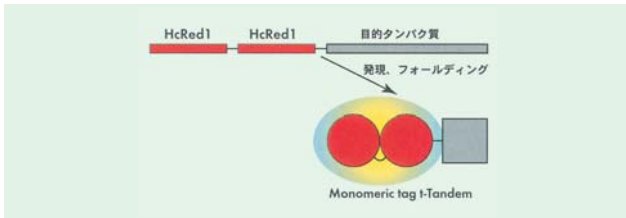
PhiYFPのpH安定性

PhiYFP (黄)、enhancedタイプのGFP (青)

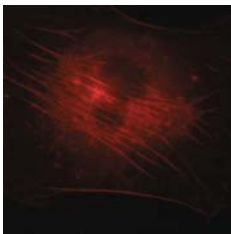
ベクター	コドン	宿主	プロモーター	選択マーカー
pPhi-Yellow™-N	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pPhi-Yellow™-C	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pPhi-Yellow™-PRL	humanized	哺乳動物	なし	Kan/Neo
pPhi-Yellow™-B	humanized	細菌	lac	Amp

## HcRed-Tandem™ Expression vectors

HcRed-Tandem™ベクターは、HcRed1の持つ細胞内凝集の欠点をタンデムタイプにすることにより解決した、より融合タンパク質に適した赤色蛍光タンパク質をコードします。図のように共有結合で分子内に2量体を形成することで新たな重合を防ぐことができます。また、FRETアッセイにおける受容体としても有用です。



t-HcRedの構成



L929細胞におけるt-HcRedを用いたアクチン繊維のin vivo標識

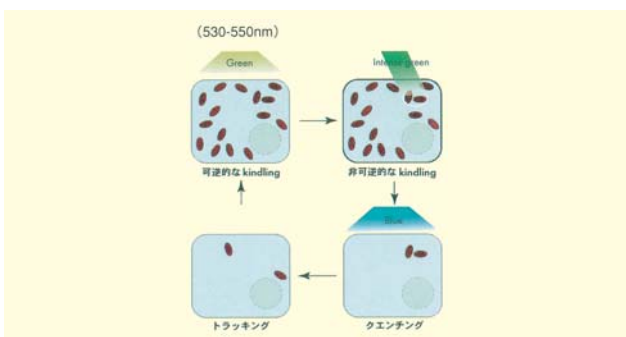
ベクター	コドン	宿主	プロモーター	選択マーカー
pHcRed-Tandem™-C1/C2/C3	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pHcRed-Tandem™-N1/N2/N3	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pHcRed-Tandem™-YB	<i>S. cerevisiae</i>	細菌	lac	Amp

### [参考文献]

- 1) Gurskaya, N.G. *et al.*: *FEBS Lett.*, **507**, 16 (2001).
- 2) Fradkov, A. F. *et al.*: *Biochem. J.*, **368**, 17 (2002).

## Kindling-Red™ in vivo tracking vectors

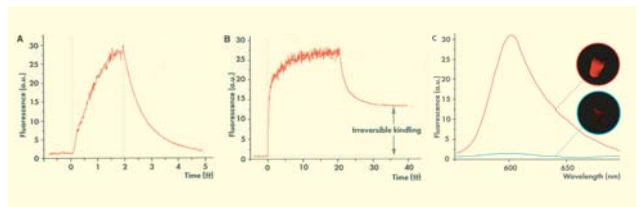
Kindling-Red™ in vivo トラッキングベクターは、光で活性化するKindling Red Fluorescent Protein (KFP-Red)をコードする新規のベクターです。KFP-Redは、そのままでは非蛍光ですが、緑色光(530-550nm)を照射すると明るい赤色蛍光(kindling)を示すようになります。また、照射する光の強さや長さにより、可逆的または不可逆的に光らせることができます。個々の細胞、オルガネラ、タンパク質を直接かつ正確に蛍光ラベルし追跡することができます。



KFP-Redのkindlingとクエンチング

## 特長

- 細胞に無毒な530-550nmを照射します。
- 目的細胞の赤色蛍光ラベルができます。
- kindling後は励起極大波長580nm、蛍光極大波長600nmを持つようになります。
- 直接的な光照射で、蛍光のスイッチのON/OFFができます。
- 緑色光によりkindlingされ、青色光ですみやかにクエンチングされます。
- 可逆的なkindleでは、その前後でKFP-Redの輝度差は約70倍です。
- 不可逆的なkindlingは、72時間以上安定に明るい蛍光を維持します。
- ミトコンドリア局在化ベクターもラインナップしています。



### KFP-Redの特性

- (A) KFP-Redの可逆的なkindlingとrelaxation。kindling光の照射開始を0分とした(532nmレーザー光、1% power)。2分後にkindling照射光を止めた。
- (B) KFP-Redの不可逆的なkindling。0分は、kindling光照射時にセットした(532nmレーザー光、20% power)。kindling照射光は、20分後に止めた。
- (C) 不可逆的なkindling (赤)/unkindling (青)のKFP-Red蛍光スペクトル。内写真は、室温で1年間インキュベーション後のintactと不可逆的なkindling KFP-Redを示している。

ベクター	コドン	宿主	プロモーター	選択マーカー
pKindling-Red™-N	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo
pKindling-Red™-B	humanized	細菌	lac	Amp
pKindling-Red™-Mito	humanized	哺乳動物	CMV IE	Kan/Neo

### [参考文献]

- 1) Lukyanov, K. A. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **275**, 25879 (2000).
- 2) Chudakov, D. M. *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **21**, 191 (2003).
- 3) Chudakov, D. M. *et al.*: *J Biol. Chem.*, **278**, 7215 (2003).

Notice to Purchaser : Evrogen Fluorescent Protein Products (the Products) are available to : Not-For-Profit-Entities for non-commercial research use. With purchase of the Products, non-profit entities are granted a worldwide, non-exclusive, royalty-free, limited license to use the Products for non-commercial life science research only. Such license specifically excludes the right to sell or otherwise transfer the Products, its components or derivatives to third parties. For any other use of the Products please contact Evrogen at [license@evrogen.com](mailto:license@evrogen.com)

※詳しくは、弊社ホームページ (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/gene/article/evrogen/index.htm>) をご覧ください。

[次頁に続く]

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
575-79651	FP104	pAce-Green™-N1 vector (N末端側融合用)	20μg	59,400
572-79661	FP105	pAce-Green™-N2 vector	20μg	59,400
579-79671	FP106	pAce-Green™-N3 vector	20μg	59,400
574-79621	FP101	pAce-Green™-C1 vector (C末端側融合用)	20μg	59,400
571-79631	FP102	pAce-Green™-C2 vector	20μg	59,400
578-79641	FP103	pAce-Green™-C3 vector	20μg	59,400
576-79681	FP107	pAce-Green™-B vector (細菌発現用)	20μg	59,400
573-79691	FP108	pAce-Green™-DB vector ( <i>Dictyostelium discoideum</i> 発現用)	20μg	76,300
576-79701	FP109	pAce-Green™-CB vector ( <i>Caenorhabditis elegans</i> 発現用)	20μg	76,300
570-79721	FP111	pAce-Green™-N vector set	1Set	103,340
573-79711	FP110	pAce-Green™-C vector set	1Set	103,340
572-90661	FP502	pCop-Green™-N vector (N末端側融合用)	20μg	101,650
570-79461	FP501	pCop-Green™-C vector (C末端側融合用)	20μg	101,650
577-79471	FP503	pCop-Green™-B vector (細菌発現用)	20μg	101,650
575-98331	FP504	pCop-Green™-YB vector (酵母発現用)	20μg	101,650
586-69591	FP505	pCop-Green™-PRL vector (プロモーターなし)	20μg	101,700
571-79491	FP602	pPhi-Yellow™-N vector (N末端側融合用)	20μg	126,990
574-79481	FP601	pPhi-Yellow™-C vector (C末端側融合用)	20μg	126,990
574-79501	FP603	pPhi-Yellow™-B vector (細菌発現用)	20μg	126,990
589-69601	FP604	pPhi-Yellow™-PRL vector (プロモーターなし)	20μg	127,000
571-79511	FP301	pKindling-Red™-N vector (N末端側融合用)	20μg	126,990
578-79521	FP302	pKindling-Red™-B vector (細菌発現用)	20μg	126,990
575-79531	FP401	pKindling-Red™-Mito (ミトコンドリア局在化用)	20μg	126,990
573-79571	FP204	pHcRed-Tandem™-N1 vector (N末端側融合用)	20μg	101,650
570-79581	FP205	pHcRed-Tandem™-N2 vector	20μg	101,650
577-79591	FP206	pHcRed-Tandem™-N3 vector	20μg	101,650
572-79541	FP201	pHcRed-Tandem™-C1 vector (C末端側融合用)	20μg	101,650
579-79551	FP202	pHcRed-Tandem™-C2 vector	20μg	101,650
576-79561	FP203	pHcRed-Tandem™-C3 vector	20μg	101,650
572-98341	FP209	pHcRed-Tandem™-YB vector (酵母発現用)	20μg	101,650
577-79611	FP208	pHcRed-Tandem™-N vector set	1Set	189,500
570-79601	FP207	pHcRed-Tandem™-C vector set	1Set	189,500

## 関連商品

### 組換えタンパク質

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
579-90671	FP112	rAce-Green™ protein	100μg	45,900
583-69621	FP251	rHcRed-Tandem™ protein	100μg	45,000
580-69631	FP351	rKindling-Red™ protein	100μg	45,000
587-69641	FP551	rCop-Green™ protein	100μg	45,000
584-69651	FP651	rPhi-Yellow™ protein	100μg	45,000

## 蛍光標識産物の取り込みに優れた逆転写酵素



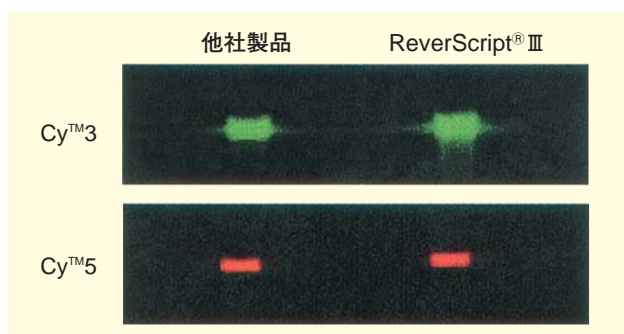
### ReverScript® III

本品はRNA依存性DNAポリメラーゼです。蛍光標識ヌクレオチドの取り込み率が高く、8.9kbまでの長鎖cDNAを合成可能です。マイクロアレイの蛍光標識プローブにも使用可能です。

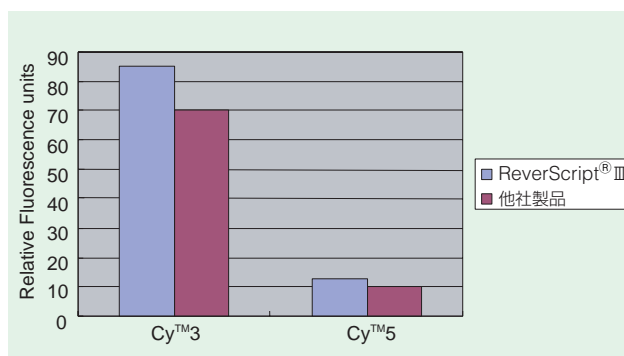
#### 構成

	10回用	100回用
● ReverScript® III	10μℓ	100μℓ
● 5×Reaction Buffer	40μℓ	100μℓ
● 25mmol/ℓ MgCl <sub>2</sub>	750μℓ	1.2mℓ

#### 実験データ



カナマイシンRNAを鋳型としReverScript® IIIによりCy™3-dCTP、Cy™5-dCTPの取り込み効率を比較した。



バックグラウンドを補正したCy™3、Cy™5標識プローブの蛍光相対ユニット

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
293-59401	ReverScript® III	遺伝子研究用	10回用	5,000
299-59403			100回用	37,000

## 関連商品

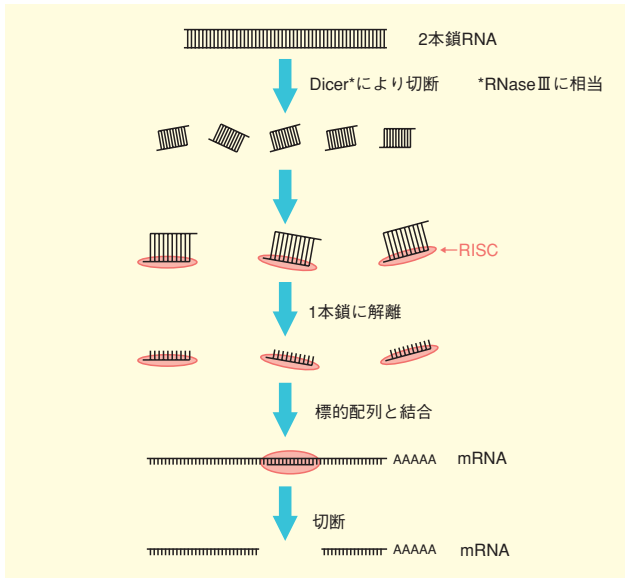
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
186-01251	ReverScript® I	遺伝子研究用	10,000units	16,800
187-01781	ReverScript® II	遺伝子研究用	10,000units	25,000



## siRNA作製酵素 リボヌクレアーゼⅢ, 組換え体, 溶液

Wako

RNAiは遺伝子発現抑制の簡便な方法として注目を浴びています。



RNAiの作用機構

本品は2本鎖RNAの3'末端を2塩基突出した30bp以下に切断する酵素です。長鎖の2本鎖RNAからのsiRNA作製に有用です。

活性：1unit/ $\mu$ l

活性の定義：1unitは37℃、1時間にて500bp dsRNA (1  $\mu$ g)を約12-30bpに断片化する酵素量

起源：E.coli RNase III cloned plasmid expressed in E.coli

### 構成

- Ribonuclease III, recombinant, Solution 250U
- 10×RNase III Reaction Buffer 500 $\mu$ l

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
543-02401	Ribonuclease III, recombinant, Solution	遺伝子研究用	250U	25,000

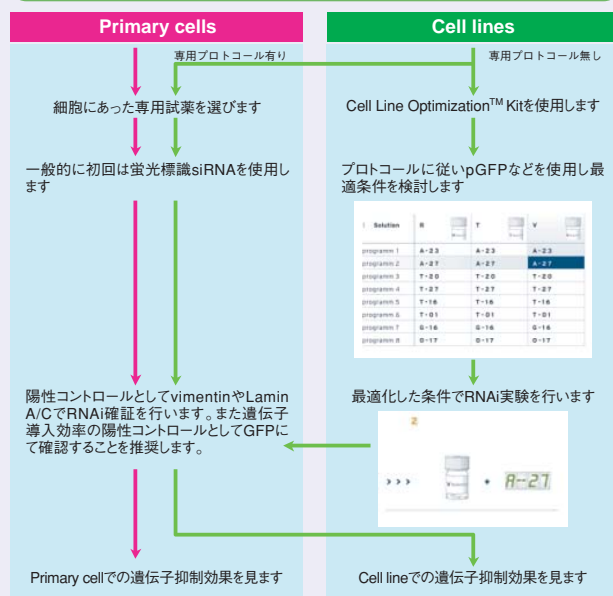
## Application

### amaxa社 Nucleofector™を使用したsiRNA導入アプリケーション



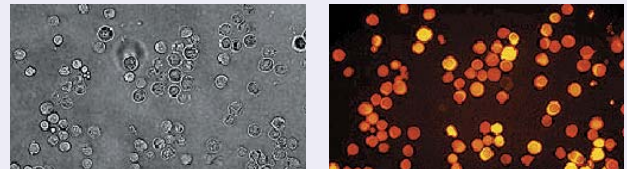
高導入効率で大好評を頂いているNucleofector™のsiRNA導入のアプリケーションをご紹介します。本システムは電圧ポレーション法を応用し導入試薬を併用することによりsiRNAを細胞内へ導入します。RNAi効果を見るためには導入効率が重要ですが、Nucleofector™では合成siRNA、siRNA発現ベクターなどの異なるタイプでも同一条件(試薬、プログラム)にて高導入効率を実現します。

#### siRNA導入のためのプロトコール決定スキーム



#### 導入例

##### [Jurkat細胞へのsiRNA導入効率]



導入後3時間経過後の顕微鏡像 導入後3時間経過後の蛍光顕微鏡像

ローダミン標識したsiRNAをJurkat細胞(ATCC)へマニュアルの条件にて導入を行った。ほぼ100%に近い細胞に導入ができた。

製品の詳細は、当社ホームページ  
(<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/gene/article/amaxa/index.htm>)をご参照下さい。

## 自然免疫機構：病原体認識、シグナル伝達、疾患との連関

東京大学医科学研究所感染遺伝学 小林 真紀子

平成15年11月28日（金）に全電通ホールで行われた第19回Wakoワークショップ「自然免疫機構：病原体認識、シグナル伝達、疾患との連関」に参加しました。自らの研究テーマであり、日本の免疫研究において常にトップにある著名な講師らの話を聞けるとあっては是非参加しない手はないと思い、非常に楽しみにしていました。そして期待を裏切らない会であったと思います。自分が関わる事項には現在の動向に注意しているのですが、本来のダイナミックな免疫機構を理解するには単眼的であり、あまりにも程遠い場所にとどまっているようで焦りを覚えることがあります。かといってミクロからマクロまで広く詳しく網羅し理解するには私のメモリはあまりにも頼りなく、しかし全体像が大まかでもつかめる機会がないかと鈍らな心でおもっていた矢先のことでした。最先端の話もさることながら、基礎的な知識についてもわかりやすく説明され、学生や臨床を主とする医師、免疫を専らとしない研究者でも、取っ付きやすく興味をかき立てられるようなものだったと思います。会場である全電通ホールは開会から閉会のときまで常に満席の状態で、会場からの質疑も活発になされ、自然免疫への関心の高さを実感し

ました。病原体の認識、シグナル伝達、獲得免疫との連携、そして疾患との連関とテーマが絶妙に変わりゆくプログラムになっており、免疫の世界を半日で一望したような気分でした。

病原体認識というテーマの第1部はNK細胞や、エンドトキシン認識機構、アポトーシスに関係した免疫機構について講演がなされました。千葉大学の荒瀬先生はウイルス感染細胞を認識するNK細胞表面のペア型レセプターの意味合い、成り立ちを、ウイルスと宿主の攻防戦から現在の形に進化したという魅力的なストーリーを展開されました。三宅先生はTLR4/MD-2複合体によるLPS認識機構について、こちらは私の研究テーマでもあるのですが、現在まさに進行中である、会合分子MD-2の機能に関するフレッシュなデータを提示されました。とりわけ昨今MD-2の機能解析が各地で進み新しい論文が次々と雑誌に掲載されており、私らも戦々恐々としています。阪大の長田先生は、DNAが分解される機構がCAD、DNaseにかかっており、それらの障害はDNAの蓄積を引き起こし炎症を惹起する、即ちDNAは危険であるという話をされました。特に目の水晶体を構成する細胞における核消失に関わる特殊なDNaseの話は、

興味深く思いました。核以外の細胞内微小器官も消失していくことも、なるほど当たり前になっていた水晶体の透明性がこのようにして得られるのかと、目から鱗であったし、おもしろく拝聴しました。

第2部は自然免疫の注目されるその中心にいるTLRシリーズにおけるシグナル伝達に関わる分子について阪大の審良先生の講演から始まりました。今回はMyD88依存的経路に関わる新しい分子をいくつか紹介され、ますます複雑化するTLRシグナル伝達機構に圧倒されるとともに、次々とノックアウトマウスを作成、解析を進める精力的な研究にただ圧倒されるばかりでした。続いて獲得免疫との連携について、まず京大の稲葉先生が、T細胞の分化、制御性T細胞の調節およびTh1Th2への決定において司令塔である樹状細胞について、同じく京大の坂口先生が樹状細胞に調節される側でもある制御性T細胞（CD25<sup>+</sup>T細胞）における、特殊な細胞表面分子とその役割、自己免疫疾患との関連についての講演でした。免疫反応を調節する側面から今後臨床応用に発展する可能性を秘めており、非常に興味深く拝聴致しました。一方でその作用の幅広さから、実際に治療に用いるためには臓器や機能の標的を狭く厳しく



総合企画の三宅健介先生



会場風景

設定する工夫が重要であるのではないかと、いろいろ考えさせられました。

最後のセクションは疾患との連関というタイトルでアレルギー疾患に関する講演でした。兵庫医科大学の中西先生は従来のIgEを介する獲得免疫反応を基盤としたアトピーとは異なる、アレルゲン非存在下でIL-18が肥満細胞や好塩基球を直接刺激することで生じる自然型アトピーという新しい概念を提唱されました。IL-18は蠕虫幹線防御に重要でありながら、実はアレルギー性炎症の誘導因子であるというまさに両刃の刃ということでした。衛生環境の改善がアレルギー疾患増加の原因というHygiene hypothesisの説明・証明は、まだ多くの課題や矛盾も多いようですが、実際にサンプルを集め、環境要因とSNPsの解析とをあわせてその説明を行うスケールの大きな仕事について、最後に京大の白川先生のお話を頂きました。アミノ酸も替わらないような、たった一つの塩基の変化が、その後のアレルギー疾患を含めた様々な病気の発症に関わるというのを証明するのは、非常に膨大なサンプルと時間、もちろん費用を必要とします。一地域の結果が必ずしも地上全体で反映されないこともあります。しかしそうやって積み上げられたデータから今確実にその結果が出つつあるのだと感じました。改めて、一塩基の変化に注目し解析を進めた先人らに畏敬の念を抱きます。

生体の免疫機構は多くの細胞や液性因子が複雑なネットワークを構成し、絶妙のバランスで作用し合って、生体の維持に役立っています。一つ一つの詳細を解明し、さらにそれらを再構成して壮大なる免疫の世界を眺望するために、私も一端を担っているということを改めて認識しました。厄介な世界に足を踏み込んでしまったものだという後悔の念がたつ一方で、壮大なパズルを解き明かしたい欲望が沸々とわいてくる、使い古された表現なら一言でわくわくどきどき、させていただきました。また、道のりはまだ長く険しいでしょうが、臨床への応用も期待するところです。最後になりましたが、



荒瀬 尚先生



長田 重一先生



審良 静男先生



稲葉 カヨ先生



坂口 志文先生



中西 憲司先生



白川 太郎先生

第19回 Wakoワークショップ

「自然免疫機構：病原体認識、シグナル伝達、疾患との連関」

日時：平成15年11月28日（金）10：00～17：00

場所：全電通ホール

総合企画：東京大学医科学研究所 感染遺伝学分野 三宅 健介 教授

講演プログラム

開催挨拶	和光純葉
はじめに	東大医科研 三宅 健介
1. 病原体の認識	
「自然免疫によるウイルス感染細胞認識機構」	千葉大院医 荒瀬 尚
「エンドトキシン認識機構」	東大医科研 三宅 健介
「DNA Degradation and its Failure in Programmed Cell Death and Other Developmental Processes」	阪大院医 長田 重一
2. シグナル伝達、獲得免疫との連携	
「Toll-like receptors：病原体認識とシグナル伝達」	阪大 微研 審良 静男
「樹状細胞機能と免疫応答の制御」	京大院生命科学 稲葉 カヨ
「CD25 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> 制御性T細胞による免疫応答制御」	京大再生研 坂口 志文
3. 疾患との連関	
「自然免疫とアレルギー」	兵庫医大医 中西 憲司
「自然免疫関連分子の遺伝子変異と疾患との関連：気管支喘息とTLRsを中心に」	京大院医 白川 太郎
おわりに	東大医科研 三宅 健介
閉会挨拶	和光純葉

講師の先生方、そしてこのような機会を設け、素晴らしい時間を演出して下さいました和光純薬の方々に感謝申し上げます。



活発な質疑応答が行われた



当社製品展示風景

## Products

### Toll-like receptor抗体

コードNo.	メーカーコード	品名	メーカー名	容量	希望納入価格(円)
571-32871	IMG-416	Anti Human TLR2, Mouse, Monoclonal Antibody	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
573-77491	IMG-416C	Anti Human TLR2, Mouse, Monoclonal Antibody, FITC conjugated	Imgenex	100 $\mu$ g	48,500
576-77501	IMG-416E	Anti Human TLR2, Mouse, Monoclonal Antibody, Azide free	Imgenex	100 $\mu$ g	48,500
576-77481	IMG-410	Anti Human TLR2, Rabbit, Polyclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	41,200
574-25031	IMG-315	Anti Human TLR3, Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
578-77561	IMG-516	Anti Synthetic peptide TLR3, Rat, Polyclonal Antibody	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
571-25041	IMG-417	Anti Human TLR4 (clone:HTA125), Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
573-77511	IMG-417C	Anti Human TLR4, Mouse, Monoclonal Antibody, FITC conjugated	Imgenex	100 $\mu$ g	48,500
579-72591	IMG-417E	Anti Human TLR4, Mouse, Monoclonal Antibody, Azide free	Imgenex	100 $\mu$ g	48,500
570-77521	IMG-428	Anti Mouse TLR4/MD-2, Rat, Monoclonal Antibody	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
577-77531	IMG-428E	Anti Mouse TLR4/MD-2, Rat, Monoclonal Antibody, Azide free	Imgenex	100 $\mu$ g	48,500
571-77551	IMG-433	Anti Human TLR6, Mouse, Monoclonal Antibody	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
575-25061	IMG-304	Anti Human TLR6, Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
579-25081	IMG-321	Anti Human TLR8, Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
572-73441	OP185	Anti TLR9 (Ab-1), Monoclonal Antibody	Calbiochem-Novabiochem	100 $\mu$ g	58,800
576-25091	IMG-305	Anti Human TLR9, Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
574-77541	IMG-431	Anti Mouse TLR9, Rabbit, Polyclonal Antibody, Purified	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300
579-25101	IMG-386	Anti Human TLR10, Mouse, Monoclonal Antibody, Purified	Imgenex	200 $\mu$ g	44,300
575-77571	IMG-526	Anti Mouse TLR, Rabbit, Polyclonal Antibody	Imgenex	100 $\mu$ g	44,300

## 1904年の化学を顧みて

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

## 長岡の土星型原子模型発表される

長岡半太郎は1903年12月5日の東京数学物理学会の常会で「線および帯スペクトルと放射能現象を示す理想原子内粒子の運動」と題する口頭発表を行った。同じ内容の論文は翌1904年に「東京数学物理学会記事概要」<sup>1)</sup>として、またイギリスのNature<sup>2)</sup>とPhil.Mag.<sup>3)</sup>誌上に印刷され発表された。土星型原子構造の提案であった。

原子構造模型に関しては1902年にL.Kelvinによる陽電荷うず模型、1903年にはP.Lenardによる正負両電荷が結びついたデナミド説、J.J.Thomsonの均質に帯電した球のプラム・プディング説が相次いで提案されていて、正しい原子構造はまだ確定していなかった。一方太陽系の構造の類推から陽電荷を中心に電子がその外側を回転するという惑星構造も1901年にフランスのJ.B.Perrinによって唱えられていた。長岡はおそらくこのPerrinの論文を知らずに、独立に土星型原子構造模型を提案したと考えられている。

この長岡の土星型模型に対しては直ちにイギリスのG.A.Schottの批判を受けることになった<sup>4)</sup>。長岡は理想的原子の構造に対する一つの模型を提出した積りで、実際の物理的数値との対比に耐え得るものとは考えてはいなかった。しかし長岡の原子模型は日露戦争時という時代的背景もあったのか、イギリスのロッジやフランスのポアンカレらによって欧



写真1. 長岡半太郎

州に好意的に紹介された。また当時の日本人として、今日の有核原子構造の先駆をなす提案をしたものとして高い評価も与えられている<sup>5, 6)</sup>。

## 液体空気の多量製造が実施される

1894年以来C.P.G.R.Lindeは空気をジュール・トムソン効果を利用して臨界温度以下に冷却し、同時に加圧することにより液化させていたが、1904年にオランダのHeike Kamerlingh-Onnesがこの液体空気を大量に製造、補給することに成功した。



写真2. H. Kamerlingh-Onnes

## 不斉化学合成がはじめて行われた

E.Fischerが1894年に、不斉炭素を有する構造の分子を通常の方法で合成するとラセミ体のみが得られるが、生体内では光学活性体が生成されていることから考えて、ある特別な条件を見つければ、化学的にも不斉合成が行える可能性を指摘していた<sup>7)</sup>。1904年にW.Marckwaldはエチルメチルマロン酸のモノブリン塩を脱炭酸してからブリンを除去してわずかではあるが旋光度を持った光学活性 $\alpha$ -メチルエチル酢酸を得たと報告し、最初の不斉合成を実現できたとした。そして「不斉合成 asymmetric synthesis とは不斉構造を持たない分子から物理的手段を用いず、中間に何らかの光学活性物質を用いることによって光学活性体の生成物を

得ること」と定義した<sup>8)</sup>。もっともこのMarckwaldの実験結果には後に疑問が持たれたが、今日では不斉合成は日常茶飯の有機合成手法となっている。わが国の野依良治教授がきわめて効率的な不斉合成法を確立して、2001年にはその「キラル触媒による不斉酸化反応の研究」によってノーベル化学賞を受賞されたことは記憶に新しいところであって、この100年間の不斉合成化学の進歩に正に隔世の感を抱かさせられる。

## 糖蜜から新アミノ酸イソロイシン発見される

1901年にE.Fischerは蛋白質加水分解物をエステル法で分画したロイシン画分に純ロイシンよりも大きい旋光度を示す未知アミノ酸が存在することを指摘していた<sup>9)</sup>。1904年にFelix Ehrlichはビート糖蜜からロイシンと分析値は一致するが、ロイシンに比べて水に難溶で、高旋光度、低分解点を示すアミノ酸を分離し、その銅塩を経て、新アミノ酸イソロイシンの単離、発見に成功した<sup>10)</sup>。Ehrlichは1907年にこの新アミノ酸の分解反応から $\alpha$ -アミノ- $\beta$ -メチルバレリアン酸の構造を推定した<sup>11)</sup>。さらにEhrlichはd-バレリアルデヒドのストレッカー反応によってイソロイシンの合成を試みたが、この時、得られたジアステレオマーをd-イソロイシン（正しくはL-イソロイシン）とd-アロイソロイシン（正しくはD-アロイソロイシン）と称したが、これがotherという意味の“allo”の語が使用された最初である<sup>11)</sup>。イソロイシンの4種の光学異性体の合成は1931年にE.AbderhaldenとW.Zeissetによって成し遂げられた<sup>12)</sup>。

## ブヒャラー反応見つかる

芳香族アミノ酸のアミノ基が亜硫酸水素ナトリウムで水酸基に変わり、逆に水酸基が亜硫酸アンモニウムによってアミノ基に変わるというブヒャラー反応がH.Buchererによってナフトリン誘導体で見出された<sup>13)</sup>。ナフトールとフェニルヒドラジンからベンゾカルバゾールが得られるブヒャラーのカルバゾール合成もこの反応の応用である。

## ニコチンの化学合成が行われた

煙草飲みには切っても切れないニコチンの構造は1893年にPinnerによって明かにされていたが<sup>14)</sup>、その3-(1-メチル-2-ピロリジニル)ピリジンの構造が、1904年にA.Pictetらによって合成された<sup>15)</sup>。

## 有機珪素化学が開かれる

1904年にF.S.Kipping<sup>16)</sup>とW.Dilthey<sup>17)</sup>が独立に四塩化珪素に有機マグネシウムハロゲン化合物を作用させるグリニャール反応によって容易に有機珪素化合物が合成される道を切り拓いた。それより以前にも四ハロゲン化珪素にハロゲン化アルキルまたはアリールから有機珪素化合物は作られてはいたが、Kippingらの方法により種々のタイプの有機珪素化合物の調製が可能となり、今日のこの分野の合成化学の発展が約束された<sup>18)</sup>。

シリコン silicon は珪素の英語名で、シリコーン silicone はオルガノポリシロキサン類の総称であるが、Kipping は炭素化合物のケトンとの構造類似性から R<sub>2</sub>SiO 型化合物に "silicone" の名を与えて改めて定義したのが、今日に至るまで使われている。

## ホルモンの名がはじめて現れる

1904年にW.M.BaylissとE.Starlingが生体の内分泌腺から出て血液により、他の器官に運ばれ、少量でその有機体の代謝や成長を司る生体にとって不可欠な物質をホルモン hormone と名づけた<sup>19)</sup>。BaylissとStarlingはそれより前の1902年に脳の粘膜から分泌される蛋白質セクレチン secretin を分離しているが、実はこのホルモンの発見としているが、実はこのホルモンの定義に従えば、最初のホルモンの分離はその1年前1901年の高峰譲吉のアドレナリンであった<sup>20)</sup>。

ホルモンは動物体に限られるものと思われていたが、1929年頃から同様な特性を持つ物質が高等植物にも見だし、植物ホルモン phytohormone と名づけられるようになった<sup>21)</sup>。オーキシン、ジベレリンなどが植物ホ

ルモンの代表である<sup>22)</sup>。

## 補酵素の存在が明らかになる

E.Bucherは1896年に酵母の搾汁が蔗糖のアルコール醗酵を起させることを発見し、その醗酵の原因となる酵素をチマーゼ zymase と命名した。1904年に至ってイギリスの生化学者 Arthur Harden と W.J.Young はチマーゼを含む酵母抽出液を半透膜で透析することによって、膜を通過しない蛋白質部分と通過する小分子の非蛋白質部に分離されることを見出した。両者はそれぞれ単独では酵素作用を示さないが、一緒に合わせると再び元の酵素作用が現れることを認めて、非蛋白質部を補酵素 coenzyme と名づけた<sup>23, 24, 25)</sup>。この補酵素は今日では補酵素 I と呼ばれるが、その構造は DNP すなわちジホスホピリジンヌクレオチドであることが解明されたのは1942年で<sup>26, 27)</sup>、1957年にはA.R.Toddによる有機合成によってその構造が確定している。なおまたチマーゼは十数種の酵素から成る複合系であることが次第に明らかになったのも後年のことである。



写真3. A. Harden

## 脂肪酸のβ酸化説が提唱される

F.Knoopによって動物組織中の脂肪酸はカルボン酸からβ位の炭素が酸化されて、順次その酸化反応がくりかえされて、炭素鎖の

分解が進行するというβ酸化説が提唱された。その後、F. Linenらの研究によってその動物体内における脂肪酸のβ酸化の酵素系が完全に明らかにされて行った。

## 酵素アルギナーゼが発見される

この年、アルギニンをオルニチンと尿素に加水分解する酵素アルギナーゼがA.KosselとH.D.Dakinによって発見された。アルギナーゼは生物の窒素代謝に重要な役割を担っていて、哺乳動物、植物種子、微生物などに広く分布存在している。このアルギナーゼの発見と研究を基にして、1932年のKrebsによる尿素生成に関するオルニチンサイクル説が提出されるに至った。

## ヌクレオデアミナーゼが発見される

W.Jonesが胸腺の自己消化中に核酸の脱アミノ化反応が起っていることを見出し、核酸加水分解物の脱アミノ化を触媒する酵素ヌクレオデアミナーゼを発見した。これには基質の構造にしたがって数種のデアミナーゼが存在する。

## 最初の化学療法が発表される

明治30年(1897)に日本で赤痢菌を発見していた志賀潔は1901年にドイツに留学して、Paul Ehrlichに師事した。Ehrlichは化学療法剤の可能性を考えていて、反応物質の「側鎖」が微生物の「受容体」にうまく適合すれば免疫が成り立つとする側鎖説を提唱していたが、この自説に従って多くの染色剤を微生物に作用させる試みを開始していた。1904年にEhrlichと志賀は睡眠病の病原体原虫トリパノゾーマによる病気を色素トリパン赤により治療する方法を発表した。これが化学療法の最初の報告である。この延長上に発見されたのが有名な秦佐八郎とEhrlichによる梅毒スピロヘータに対するサルバルサンであった。



写真4. P. Ehrlich

## アセチルセルロースの工業的製法成る

アセチルセルロースは1869年にBaeyer社のP.Schützenbergerにより発見されていた<sup>28)</sup>。1904年頃になってA.EichengrünとT.Beckerがセルロースに無水酢酸と氷酢酸の作用で得られるトリアセチルセルロースをアセトン溶液中で稀酢酸による部分加水分解を行うことによって、有用なアセチルセルロースの工業的製法を確立した<sup>29,30)</sup>。その溶解性、耐熱その他の特性はそのアセチル化度により異なるが、アセチル化度に応じてプラスチック、ラッカー、写真フィルム、繊維などの用途に広く使われる<sup>31)</sup>。特にアセチルセルロース繊維の製法はBaeyer社により始動された。

## 世界最初のビスコース法による人絹製造工場が建設される

イギリスのSamuel Courtaulds社が世界最初のビスコース式人絹工場を建設、製産を開始した。溶解パルプを苛性ソーダ溶液に浸漬してアルカリセルロースにして、これに二硫化炭素を反応させて、セルロースキサントゲン酸ナトリウムにして、水または苛性ソーダ浸液に溶解してビスコースにし、ビスコースレーヨンやセロファン<sup>32)</sup>の製造に使用された。

## 化学繊維の乾式紡糸法が開発される

線状構造の合成高分子物質を適当な溶媒に溶解して、ノズルより噴出させて、熱風を送って溶媒を気化させて繊維状にする乾式紡糸法がフランスのH.B.de Chardonnetによってはじめて行われた。Chardonnetは最初の方法でニトロセルロースを繊維状にしたが、その後、この方法は工業的に確立されて現在ではアセチルセルロース、アクリルニトリル、ポリ塩化ビニルなどの紡糸法に広く用いられている。

## V.V.Markownikov逝く

ロシアの有機化学者で炭素不飽和結合に対するハロゲン化水素の付加の位置に関する経験則のマルコフニコフの法則を発見したVladimir Vasilevich Markownikovがこの年2月11日に亡くなった。

## A.W.Williamsonが没した

ロンドン大学教授でウィリアムソンのエーテル合成で知られるAlexander William Williamsonが5月6日に死去した。Williamsonは明治初期に英国に渡った日本人留学生、伊藤博文、井上馨らを世話し、また桜井錠二の化学の師であった。また東京開成学校に外人教師として迎えられたR.W.AtkinsonもWilliamsonの弟子でその推薦を受けて来日した。

## C.A.Winklerが死去した

ガス分析法を開発し、ニッケル、コバルトの工業的製法を案出して、新元素ゲルマニウムを発見したドイツの化学者Clemens Alexander Winklerがこの年10月8日にドレスデンで亡くなった。

### 〔参考文献〕

- 1) 長岡半太郎：東京数学物理学会記事概要、第2巻、92(1904)。
- 2) Nagaoka, H.: *Nature*, Feb. 25(1904)。
- 3) Nagaoka, H.: *Phil. Mag.*, [6], 7, 445(1904)。
- 4) Schott, G. A.: *Nature*, Mar. 10(1904)。
- 5) 武谷三男：『量子力学の形成と論理』、(銀座出版)(1948)。
- 6) 天野清：『量子力学史』、(日本科学社)(1948)。
- 7) Fischer, E.: *Ber.*, **27**, 3230(1894)。
- 8) Marckwald, W.: *Ber.*, **37**, 349, 1368(1904)。
- 9) Fischer, E.: *Z. Physiol. Chem.*, **33**, 151(1901)。
- 10) Ehrlich, F.: *Ber.*, **37**, 1809(1904)。
- 11) Ehrlich, F.: *Ber.*, **40**, 2538(1907)。
- 12) Abderhalden, E., Zeisset, W.: *Z. Physiol. Chem.*, **195**, 721(1931)。
- 13) Bucherer, H.: *J. prak. Chem.*, **69**(2), 49(1904)。
- 14) Pinner: *Ber.*, **26**, 294(1893)。
- 15) Pictet, A., Rotschy: *Ber.*, **37**, 1225(1904)。
- 16) Kipping, F. S.: *Proc. Chem. Soc.*, **20**, 15(1904)。
- 17) Diltthey, W.: *Ber.*, **37**, 1139(1904)。
- 18) Kipping, F. S.: *Proc. Chem. Soc. (London)*, **A159**, 139(1937)。
- 19) Bayliss, W. M., Starling, E.: *Proc. Roy. Soc. (London)*, Ser. B73, 310(1904)。
- 20) 芝哲夫：本誌、**69**(1), 2(3), 2(2001)。
- 21) Went, F. W.: *Rec. trav. bot. Neerl.*, **25**, 1(1929)。
- 22) Linser, H.: *Angew. Chem.*, **78**(18/19), 895(1966)。
- 23) Harden, A., Young, W. J.: *J. Physiol. (London)*, **32**, 1(1904)。
- 24) Harden, A., Young, W. J.: *Proc. Chem. Soc.*, **21**, 189(1905)。
- 25) Harden, A., Young, W. J.: *Proc. Roy. Soc. (London)*, **B77**, 405(1905)。
- 26) Euler, H. v., Karrer, P., Usteri, E.: *Helv. Chim. Acta*, **25**, 323(1942)。
- 27) Warburg, O., Christian, W.: *Biochem. Z.*, **311**, 209(1942)。
- 28) Schützenberger, P.: *Compt. rend.*, **68**, 814(1869)。
- 29) Eichengrün, A., Becker, T. et al.: (*BAEYER*), D.R.P. 159 524(1901/1905)。
- 30) Eichengrün, A., Becker, T. et al.: (*BAEYER*), D.R.P. 252 706(1905/1912)。
- 31) Zachrich, K. W.: *Angew. Chem.*, **53**, 144(1940)。

# LC/MS関連試薬



LC/MS(液体クロマトグラフィー/質量分析計)は、生体・食品・環境分析など様々な分野で広く普及しています。特に近年では、装置のインターフェース部の開発・改良が飛躍的に進んだ結果、環境汚染物質や薬物代謝物の極微量分析などにも適用されています。

この度当社では、微量不純物を低減させたLC/MS用溶媒と、非特異的吸着を最小限にまで抑えた逆相系LC/MS用充てんカラムを発売しました。

## LC/MS用 溶媒

### 特 長

- LC/MS分析適合性試験を実施  
m/z 50~2,000でのノイズレベルを保証
- アルミキャップを採用  
プラスチックキャップから微量汚染物質が混入する可能性を低減

### 規 格

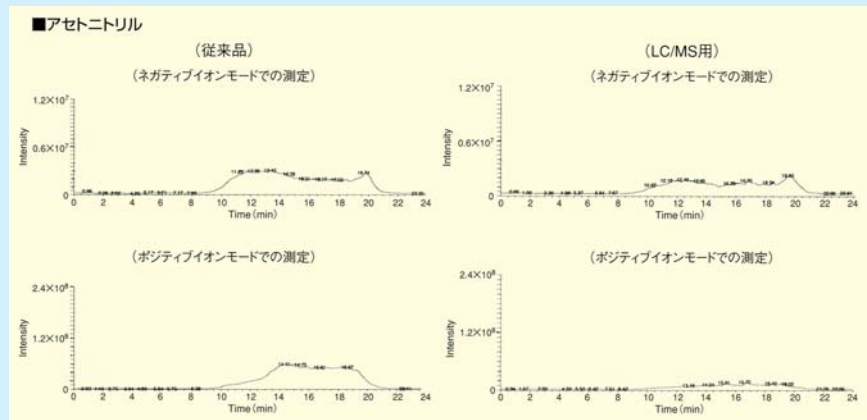
従来の高速液体クロマトグラフ用の規格にLC/MS分析適合性試験を加えました。

#### ■アセトニトリル

含量(毛管カラムGC): 99.8%以上  
密度(20℃): 0.780~0.783g/ml  
蛍光試験: 試験適合  
LC/MS分析適合性: 試験適合

#### ■メタノール

含量(毛管カラムGC): 99.7%以上  
密度(20℃): 0.789~0.792g/ml  
蛍光試験: 試験適合  
LC/MS分析適合性: 試験適合



従来品(HPLC用)とLC/MS用との比較—グラジエント時(TIC)

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
012-19851	Acetonitrile	LC/MS用	1ℓ	5,600
018-19853			3ℓ	13,000
138-14521	Methanol	LC/MS用	1ℓ	1,600
134-14523			3ℓ	3,400

## 逆相系LC/MS用カラム Wakopak®MS-5C18GT

カラム管内壁をガラスライニング処理した逆相系LC/MS用充てんカラムです。また、両端のカラムフリットにも高純度チタンを使用し、非特異的吸着を最小限に抑えたカラムです。

### 特 長

- 金属(鉄)との接触を避け、金属配位性化合物の影響を極限まで抑制
- 生体試料中の微量成分分析に優れたピーク形状と回収率



品 名	カラムサイズ	ジョイントタイプ	カラム記号	容 量	希望納入価格(円)
Wakopak®MS-5C18GT	2.0mmφ×150mm	デュポンタイプ	ノAD	1本	59,000

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、医療用など他の用途には用いられません。

記載価格は希望納入価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol.72 No.1  
2004年1月15日 発行  
発行責任者 金澤廣継  
編集責任者 大西礼子  
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 (代表)  
URL <http://www.wako-chem.co.jp>  
印刷所 株式会社 林欧文堂

- 和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。  
E-mail [oonishi.reiko@wako-chem.co.jp](mailto:oonishi.reiko@wako-chem.co.jp)
- 製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。  
フリーダイヤル 0120-052-099  
フリーファックス 0120-052-806  
E-mail [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)