

## 〔総説〕

「ジルコニウム触媒を用いた 1-オレフィンの不斉カルボアルミネーション

(ZACA Reaction : Zr-Catalyzed Asymmetric Carboalumination of Alkenes)」

根岸英一 …… 2

「蛍光色素によるタンパク質内微小環境変化の検出技術とその応用」

並木繁行 …… 9

〈生薬のはなし〉

「生薬に関わって想うこと -「柴胡さいこ」について-」

神田博史 …… 12

〈テクニカルレポート〉

「ポジティブリスト制関連 動物用医薬品の LC/MS/MS 分析」

吉田貴三子 …… 14

〈寄稿原稿〉

「二量体 SOD 酵素の構造変化とその検出法」

西田雄三 …… 34

## 〔化学大家〕

「柴田雄次」

芝 哲夫 …… 31

## 〔製品紹介〕

### 有機合成

ジルコニウム触媒 「(-)-(NMI)<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub>」 …… 8

(トリメチルシリル) メチルリチウム・ヘキサン溶液 …… 19

### 環境・分析

ポジティブリスト関連標準品 …… 16

プレセップ® シリーズ C18 (ODS) …… 19

日本薬局方規格 生薬標準類 …… 19

RoHS 対応用試薬 …… 20

(株)セルシード 温度応答性 HPLC カラム  
「アクア・ウェイシリーズ」 …… 21

カビ毒溶液 …… 29

### 培養

トリプシン EDTA 溶液 …… 24

細胞培養用 液体培地、平衡塩溶液 …… 24

植物発現組換えタンパク質 …… 25

### 細胞生物・生化学

タンパク質蛍光プローブ 「I-SO-IAA」 …… 11

ポリアクリルアミドプレキャストゲル 「スーパーセップ™」 …… 22

タンパク質サイズマーカー …… 23

LPS (リボポリサッカライド) …… 26

がん転移抑制剤 「MI-22」 …… 26

グルタミン酸レセプター作用物質 …… 27

カイニン酸 *n* 水和物 …… 27

ユビキノン -10 …… 27

新規阻害剤 …… 28

CaroteNature 社 (*E/Z*)-フィトエン、  
(*E/Z*)-フィトフルエン …… 29

電気泳動槽 「イーザーセパレーター™」 …… 36

遺伝子

DNA メチル化阻害剤 …… 30

### 1 はじめに

生体化合物はアミノ酸や炭水化物等で代表されるようにキラル (chiral) 不斉体が多いにもかかわらず、太古から知られている酵素反応等を用いることなく人工的に高純度の不斉体を合成することは最近迄困難であった。1960年代の初めに H. C. Brown 等<sup>1)</sup> がキラルオルガノボランを量論的に用いた高度 ( $\geq 95\%$  ee) に不斉な C-H 及び C-B 結合生成反応を開発した。その二・三年後に野崎・野依等<sup>2)</sup> がキラル銅錯体を触媒に用いて不斉 C-C 結合生成反応を発表した。初期の不斉度は約 10% と極めて低かったが、これが遷移金属触媒を用いた不斉合成の発端となった。キラル試薬はキラルであるが故に一般的により高価なものが多いので触媒として用いることが望ましい。三十年以上も前の Hajos 等<sup>3)</sup> の先端的な研究が見直されて、近年活発に開発されるに至ったオルガノカタリスト (organocatalysts)<sup>3)</sup> は酵素に類似したものと云えよう。金属を含むもののうち典型金属化合物は主に酸・塩基化合物として触媒的に広く応用出来るが、それ以外の反応性を必要とする場合は不斉ヒドロボレーション<sup>1)</sup> やクロチルボレーション<sup>4)</sup> のように触媒的にキラル基を用いるのが困難な場合が多い。これに比して遷移金属化合物はいわゆる酸・塩基触媒としても用いられるが遷移金属特有の多様な反応性に基く酸・塩基以外の触媒として広範囲に用いられる利点がある<sup>5)</sup>。この種の遷移金属触媒は上記の理由で「第三の触媒」と云えよう。

1. 酵素及びオルガノカタリスト
2. 他の酸・塩基触媒 (非金属、典型及び遷移金属化合物を含む)
3. 遷移金属触媒 (第2項目の単なる酸・塩基触媒以外のもの)

上記野崎・野依等<sup>2)</sup> の不斉シクロプロパネーションの発表からやや遅れて Horner 等<sup>6)</sup>、Knowles 等<sup>7)</sup>、Kagan 等<sup>8)</sup> の遷移金属触媒を用いた C-H 結合生成の一

つである不斉 hydrogenation が発表された。その約十年後の 1980 年に Sharpless-香月の不斉 epoxidation<sup>9)</sup> (不斉 C-O 結合生成反応の一例)、そして野依等<sup>10)</sup> の不斉 hydrogenation を含むいくつかの不斉 C-H 結合生成反応開発を経て、「第三の触媒」を用いた不斉合成は開花した。酵素や他の酸・塩基とは異なるスコープ (scope) を持つ新規かつ有用な有機合成法として認められ、2001 年度の野依、Knowles、Sharpless の Nobel 賞受賞につながっている。

### 2 ZACA 反応の発見

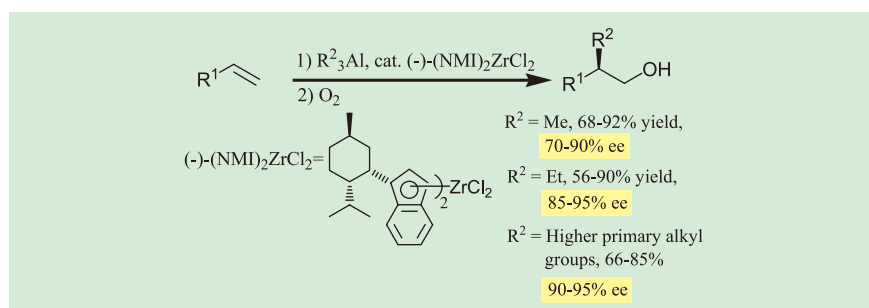
上記の銅触媒を用いたオレフィンのシクロプロパネーション (cyclopropanation) を除くと、遷移金属触媒を用いた不斉 C-C 結合生成反応の開発は C-H や C-O 結合生成反応の開発に比べかなり遅れたと云える。Pd や Ni 触媒を用いた玉尾-林-熊田等<sup>11)</sup> の不斉クロスカップリング (cross-coupling)、柴崎等<sup>12)</sup> 及び Overman 等<sup>13)</sup> の不斉 Heck 反応、そして長年の懸案であった辻-Trost 反応<sup>14)</sup> の不斉化を含む Trost 等の不斉アリル化 (allylation) 等<sup>15)</sup> はそれ等の先端的なものとして云えよう。著者等は 1978 年に発見した  $ZrCp_2Cl_2$  を触媒とするアセチレンのカルボアルミネーション (Zr-catalyzed alkyne carboalumination)<sup>16)</sup> に基づく不斉オレフィンのカルボアルミネーション開発を試みたが、これに成功したのは 17 年後の 1995 年であった<sup>17)</sup>。数々のキラルなジルコノセン錯体中、bis(1-neomenthylindenyl) zirconium dichloride<sup>18)</sup> (以下  $(NMI)_2ZrCl_2$  と示す) が最も良好な結果を示したので、以下にこれを用いた結果のみを示す。

### 3 ZACA 反応の開発と現状

スキーム 1 に示したようにエチル及びより長いアルキルを含むオルガノアラン (organoalanes) を用いた場合の不斉度は 85-95% ee と秀れている<sup>19)</sup> が、最も重要なメチルアルミネーションの場合不斉度は 70-90% ee と他の場合に比べて明らかに低い<sup>17)</sup>。これはメチル基のみが、 $\alpha$ -アゴスティックインターラクション ( $\alpha$ -agostic interaction) に由来すると考えられる二次的不斉インダクション (secondary asymmetric induction) に関与出来ないという特性に由来すると考えている<sup>20)</sup>。それはそれとしてこの問題の合成面での改善は目下検討中である。その間に過去数年にわたってスキーム 1 に示した反応を用いて不斉 C-C 結合生成法を開発した結果予想外に良好かつ広範囲に適用可能なそして更に工業化も含めた実用性の高いものになったと考えられるので以下に現状を紹介したい。この開発には古くから知られているがしばしば勘違いされる原理や、思いがけない好運な現象も含めていくつかの breakthroughs を必要としたことを強調して以下にそれ等をまとめて紹介する。

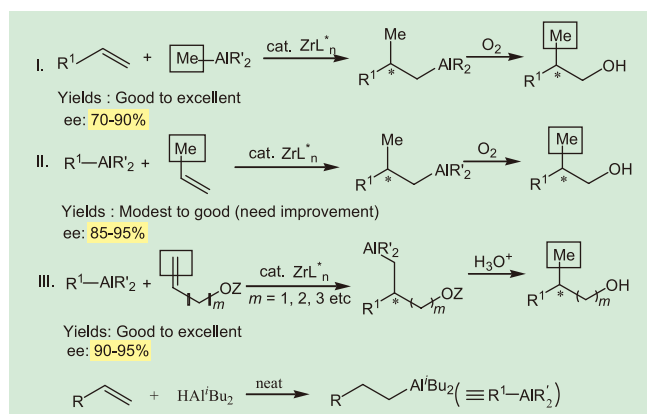
#### 3-1. ZACA 反応に基く三 Protocols

合成上最も重要と考えられる 2-メチル-1-アルキル誘導体を不斉メチルアルミネーションで合成する Protocol I に加えて、プロベンにエチル又はより長いアルキルと Al を付加することにより約 10-15% より高い不斉度で同じ生成物が得られる



Scheme 1.

(Protocol II)。ただし Protocol I と II では触媒のキラリティは反対にする必要がある点注意されたい。さらに $\omega$ -ヒドロキシ-1-アルケンのエチル又はより長いアルキルと Al の付加後単に加水分解によって Protocol I 又は II で得られると同じ 2-メチル-1-アルコールのみならず  $n$ -メチル-1-アルコール ( $n=3,4$ , 等) が高収率かつ高不斉度 (90-95% ee) で得られることが分かった<sup>21)</sup> (Protocol III)。この場合のキラリティセンス (sense of chirality) は Protocol I の場合と同じになる (スキーム 2)。トリアルキルアルミ化合物の三つのアルキルのうち一つだけが反応に使われる。Me<sub>3</sub>Al, Et<sub>3</sub>Al 等のように安価に購入出来るもの場合は特に問題はないが高価なアルキル基を用いる場合その三分の一しか利用出来ないのは大きな問題である。しかしこの問題は高価な 1-アルケンに DIBAL-H でしばしば溶媒なしにヒドロアルミ化したものを使用してさげられる<sup>21)</sup>。これもスキーム 2 の最後に示す。イソブチル基の反応性は約十分の一以下にとどまる。3-ブテン-1-オールを用いて一ステップで約 90% ee の 3-メチル-1-アルコールが約 90% 収率で得られる例をスキーム 3 に示す<sup>21)</sup>。高能率、高収率、高不斉度 (88-92% ee) を示すが生成物は未だ純品ではない。いかなる不斉合成法も純品 ( $\geq 98\%$  ee 又は  $\geq 99\%$  純度) が容易に得られて始めて実用的なものになる。これに関して二つの極めて実用的な方法があることを以下に説明しよう。



Scheme 2.

### 3-2. ZACA反応による Deoxypolypropionates 等の高能率合成法

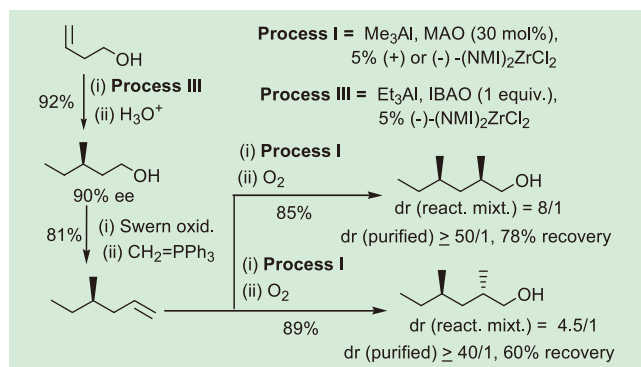
多くの場合キラル有機化合物は二つ又はそれ以上の不斉点を持つ。二つのとなり合う不斉炭素が (1,3) の関係にある deoxypolypropionates は極めて多種多様な化合物群として天然に存在し様々な生化学活性を示す。有機合成のターゲットとして極めて重要かつチャレンジングなものである。構造上 convergent な合成は容易でなくほとんど linear なものに限定されている。過去 15-20 年主流として広く使われたものは Evans<sup>22)</sup>、Myers<sup>23)</sup>、正宗<sup>24)</sup>、Enders<sup>25)</sup> 等によって開発された量論的カルボニル化合物の不斉アルキル化であるがかなり高価なキラル試薬を量論的に使う必要がある点、そして反復による deoxypolypropionates 合成の場合一サイクルに三ステップを必要とする等本質的に改良が困難な問題をかかえている。極めて最近に Feringa 等<sup>26)</sup> が銅触媒を用いた共役付加による不斉 C-C 結合生成反応を deoxypolypropionates の合成に応用した。触媒反応ではあるが、反復に三ステップを必要とするという問題は未解決のままである。

ZACA 法でも初めはスキーム 3 に示すように (i) アルケンの ZACA 反応による

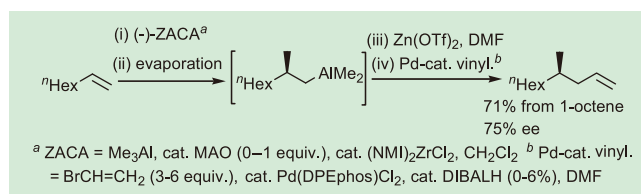
アルコール生成、(ii) 酸化によるアルデヒド合成、(iii) Wittig オレフィネーションと一サイクルに三ステップを要した<sup>27,28)</sup>。得られた 2-メチル-1-アルコールは (i) ヨーソ化、(ii) Pd-触媒を用いるビニール化の後に (iii) ZACA 反応及び酸化により一サイクル後の 2-メチル-1-アルコールに変換出来るがこれも三ステップを要する<sup>27-29)</sup>。後者の場合 ZACA 反応で直接得られる生成物は 2-メチル-1-アルキルアランでありアルキルアランは Pd-Zn 二触媒系を用いてビニール化出来るはずである。反応条件を検討の末 Zn(OTf)<sub>2</sub> を補助試薬として又 Pd(DDEphos)Cl<sub>2</sub> を触媒として DMF 溶媒中で約 70% 収率で one-pot iteration (一段階反復サイクル) の開発に成功した<sup>30)</sup> (スキーム 4)。三つ又は四つと不斉炭素が (1,3) の関係で連っている場合上記の他の既存法では九又は十二ステップを要したが ZACA 法を one-pot iteration protocol を用いて適用すれば三又は四ステップで合成出来るので極めて能率の高い合成法が開発されたことになる。但し生成物はこのままでは純品でない。

### 3-3. 不斉反応反復による Kinetic Enantiomeric Resolution

不斉化合物の精製には enantiomer の分



Scheme 3.



Scheme 4.



離と diastereomer の分離の二つの異なる要素がある。往々にして enantiomer の分離には旧来から知られている optical resolution が必要であると思われる。これは diastereomer の生成、分離、diastereomer 分解による純品回収の三ステップを要し時間的にもコスト的にも出来るだけ回避したい。純品 (≥98%ee) を直接に得られない場合に最も望ましいのは不斉反応自身に enantiomer の精製をゆだねる kinetic resolution 法を用いることで、これは例外なくすべての不斉反応の反復又は二つ以上の不斉体のコンビネーションにより最も多く生成する不斉体の enantiomeric purity が統計的に向上するという普遍的原理に外ならない。これは誰でも知っている筈の原理であるがしばしば誤解されたり忘れられていたりしているので注意したい。例えば 90/10 の比 (80%ee) で二つの可能な stereoisomers (R と S) が生成する同じ又は二つの異なるプロセスを繰返した場合、二つの不斉点を持つ生成物の enantiomeric purity はマッチ-ミスマッチを無視すれば 97.6%ee となる筈である。もし 80%ee の不斉プロセスを三回又は四回繰返せばほぼ 99.9% 又は 99.99% に近い enantiomeric purity で最終生成物が得られる筈である。まさにこれぞ自然がたくまずして極めて高純度のアミノ酸

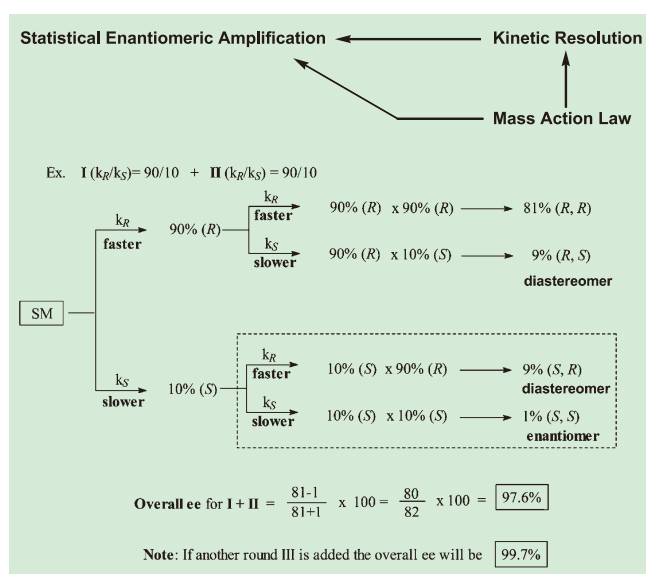
をペプチド生成分解を繰返すことにより合成して来た重要な原理の一つに違いないと考えられそうである。2,4-dimethyl-1-alkanols の合成に戻るが約 80%ee のプロセスを二度繰返すだけでほぼ 98%ee の生成物が得られることは実験的に繰返し実証されて疑う余地は全くない<sup>27-31)</sup>。更に三量体・四量体の生成により 99%ee をはるかに越える enantiomeric purity を持った目的物が得られることも繰返し実証されている<sup>27-31)</sup>。但し kinetic enantiomeric resolution によっては未だ不斉体が純品として得られる訳ではない。上記の例では約 20% 近くの二つの diastereomers が不純物として生成するからだ。この二つの diastereomers の生成は実は上記の kinetic enantiomeric resolution には必要不可欠なものでいわゆる “blessing in disguise” (不幸が実は幸い) でありこれがあるからこそ enantiomeric purity は不斉プロセスを重ねるごとに向上することを充分に理解認識する必要がある。これ等の関係を上記の例を用いてスキーム 5 にくわしく示した。

### 3-4. 通常の Column Chromatography (カラムクロマトグラフィー) による Diastereomeric な 1-Hydroxy-2,4-dimethyl-butyl 誘導体の精製

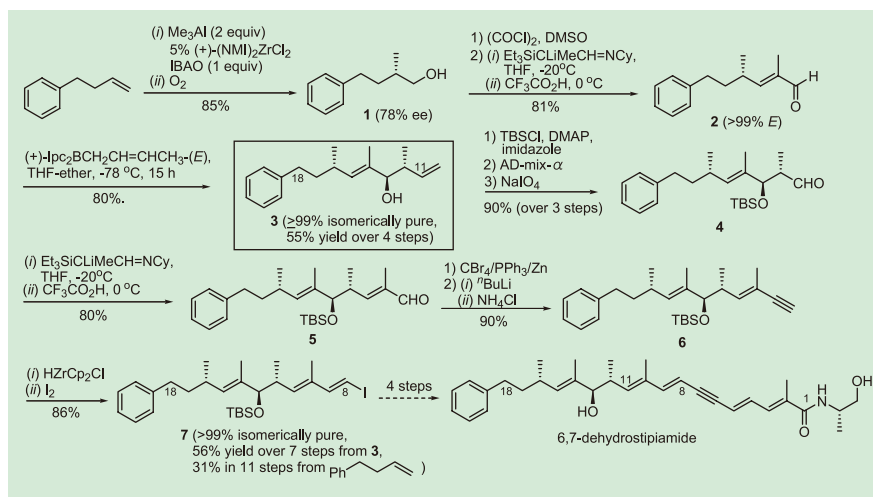
上記の deoxypolypropionates 合成で

残された問題点は如何に簡便かつ安価に diastereomers を分離するかで予想以上に簡単な方法が見出されたのは幸運と云えよう。これが広知の知見であるかないかは著者は知らないが著者等の発表以前に報告された例には未だに遭遇していない。要約すると「diastereomeric な 1-hydroxy-2,4-dimethylbutyl 誘導体はそれ等の他の部分に関係なくシリカゲルカラムと EtOAc-hexanes を用いたごく普通のカラムクロマトグラフィーで分離されている」<sup>27-31)</sup>。例外はあるかも知れないが一般性は高い。これに反し 1-hydroxy-2,4,6-trimethylhexyl 誘導体の場合は C6 位に何が有るかで分離出来たり出来なかったりする。更に二つのとなり合わせのメチル基が (1,4) 又は (1,5) の関係にある場合はクロマトグラフィーによる分離は通常法では難しいという結果を得ている<sup>32)</sup>。それでも二つ以上の不斉点を持つ不斉化合物の合成でしばしば通常のクロマトグラフィーで純品が得られることがあるので先ずはためしてみることだ。例えば ZACA 反応を使ったものとしてスキーム 6 に kinetic enantiomeric resolution 以外はクロマトグラフィーのみを精製法として用いた 6,7-dehydrostipiamide の C11-C18 中間体を 3-butenylbenzene から ZACA、Peterson オレフィネーションの Corey-Schlessinger-Mills 等による改良法<sup>33)</sup>、Brown crotylboration<sup>4)</sup> を経てわずか四ステップで 55% の収率で ≥99% の純品として得ている<sup>34)</sup>。工業的にも応用可能なものと考えている。

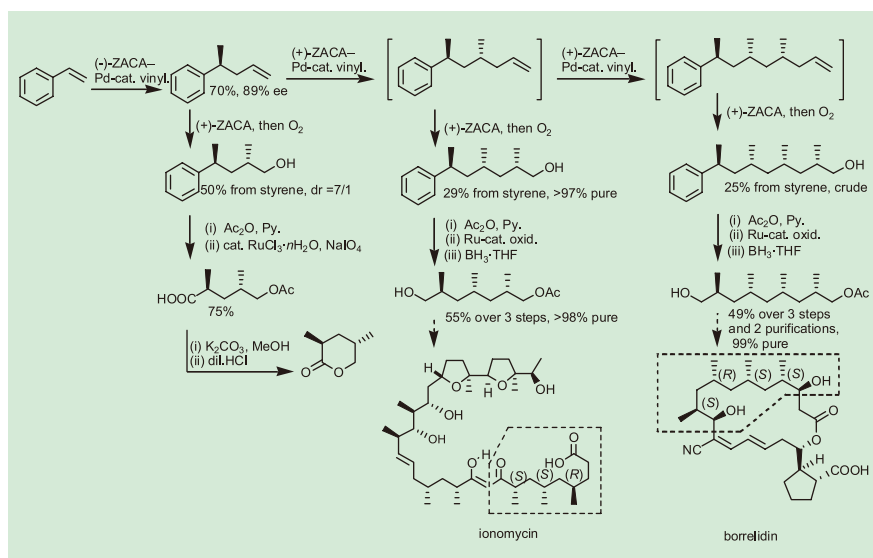
メチル基を三ヶ又は四ヶ持った deoxypolypropionates の合成法として極めて安価な スチレン (\$1/mol) とアリルアルコール (\$1.5/mol)<sup>31)</sup> を原料とした例をスキーム 7-11 に示す。着目すべきは 1-hydroxy-2,4-dimethylbutyl moiety (部位) ごとにクロマトグラフィーで精製することにより純品を得ている点である。著者等は ZACA 反応を用いた不斉合成で通常のクロマトグラフィー以外の optical resolution や他の特種の精製法を必要として用いたことは未だ一度もない。



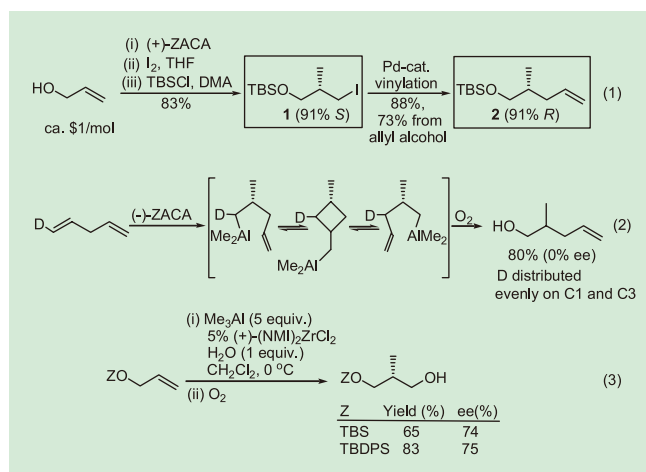
Scheme 5.



Scheme 6.



Scheme 7.

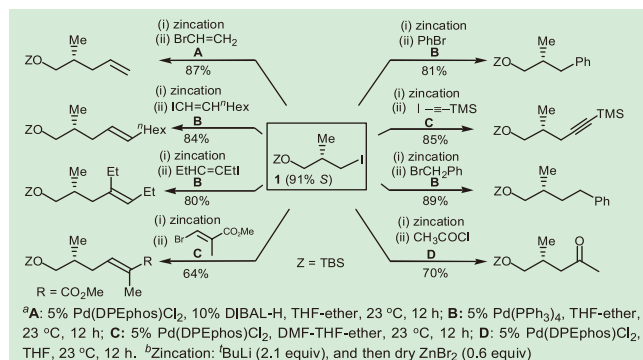


Scheme 8.

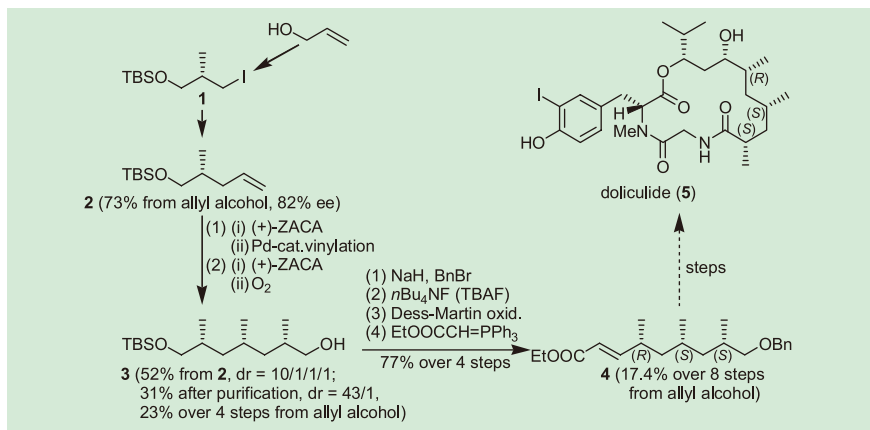
### 3-5. 不斉炭素を一つのみ含む又は二つ以上の不斉炭素がクロマトグラフィーによる精製に適さない場合のLipase-Catalyzed Acetylationによる精製（リパーゼ触媒を用いたアセチル化）

ZACA反応を用いた不斉合成法が真に一般性のある合成法となるためには不斉炭素を一つのみ含むか二つ以上の不斉炭素を有してもクロマトグラフィーによる精製に適さない場合にも純品が安価かつ簡便に得られなければならない。文献調査の結果 (i) 2-methyl-1-alkanols のラセミ体から (*R*)-体を純品 ( $\geq 98\%$  ee) として得ることは比較的容易であるが回収率は勿論50%に限定され、実際には selectivity factor (*E*-factor) により 20-40%、極めて *E*-factor の高い場合に限り 45% 位迄の回収率が望める<sup>35)</sup>。(ii) (*S*)-体をラセミ体から一回の精製で 99% 以上の純品として得ることは *E*-factor が 100 と極めて高い場合でも不可能に近い<sup>36)</sup>。従って何度かの反復で enantiomeric purity を徐々に高める操作が必要になる。(iii) 文献には不斉反応によって不斉度の高められた化合物のこの方法による精製の例はなかったように思うが理論計算でこの組合せが極めて有効であることが知られている<sup>36)</sup>。更に不斉合成反応で不斉度が  $\geq 70-90\%$  ee、特に  $\geq 80-90\%$  ee、以上に高められている場合は *E*-factor がかなり低い (10-20) 場合でも 70% 以上の回収率で得られることが予測出来る (テーブル 1)<sup>36)</sup>。

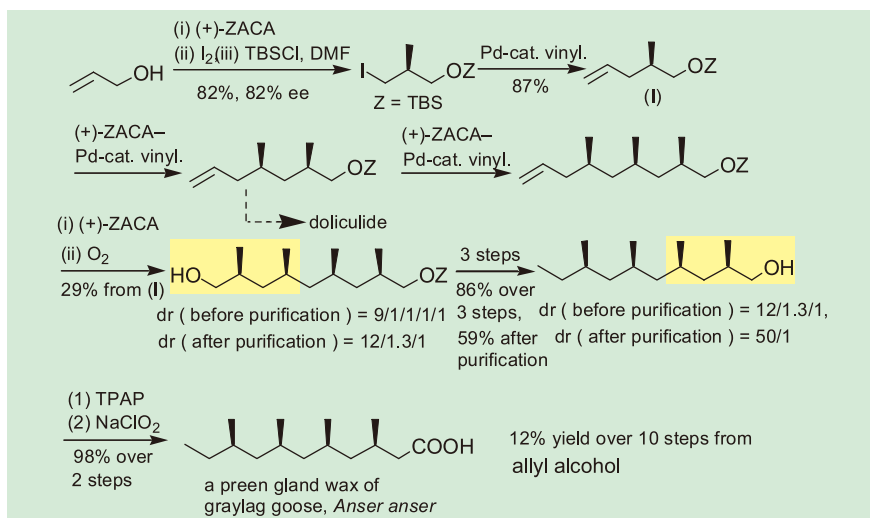
スチレンと3-ブテニルベンゼンから ZACA 反応で得られるアルコールのように極めて安価な porcine pancreas lipase



Scheme 9.



Scheme 10.



Scheme 11.

(PPL) がより有効な場合もあるが<sup>32)</sup>、一般的に Amano PS lipase が有効で、これで十分な結果が得られない場合に PPL 等他の lipase を試みるのが能率的な選択法と考えている。ZACA-lipase-catalyzed acetylation tandem法を用いて純品として得られた 2-methyl-1-alkanols (テーブル 2) と天然物又は中間体 (テーブル 3) をまとめて示す。更にアリルアルコールとスチレンから得られる ZACA 反応生成物の精製に関する詳細をスキーム 12 に示す。

## 4 おわりに

ZACA 反応の開発は未だその途上にあるがそれでも過去数年間の総合的な開発により有機合成化学者が広く応用出来る段階

に到達した。しかし MAO 又は H<sub>2</sub>O を若干 (一少量又はそれ以下) 使用することで ZACA 反応を促進する改良案を見出した Wipf 等<sup>36)</sup> が pitamide A の合成に応用した一例を除くとこれ迄天然物又はそれ等の中間体合成に応用したのは著者等のものに限られているのが現状である。三ステップを要する (NMI)<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub> の合成<sup>18)</sup> は決して難しいものではないが、それでもこれを合成して使わなければならない現状が ZACA 反応が未だに広く応用されていない大きな原因だと考えている。この度 和光純薬工業 (株) の皆さんがこの工業化に興味を持って下さったことは著者等にとって大いなる喜びであり工業化の成功を祈ってやまない。

「第三の触媒」、つまり遷移金属を触媒とする不斉合成法は今後益々の開発が期待

Table 1. Maximally Attainable Yields of (*S*)-2-Alkyl-1-alkanols of  $\geq 98\%$  ee as a Function of Initial ee ( $ee_0$ ) and *E* Factor (Based on Ref. 36)

Initial $ee_0$ (%)	<i>E</i>	Max. yield (%)
0 (racemic)	100	$\leq 2$
	90	0
20	100	$\leq 35$
	80	$\sim 20$
	60	0
50	100	$\leq 70$
	50	$\sim 55$
	40	$\sim 25$
	30	0
60	100	$\leq 80$
	50	$\sim 65$
	30	$\sim 25$
	20	0
70	100	$\leq 85$
	50	$\sim 80$
	30	$\sim 60$
	20	$\sim 25$
	10	0
80	100	$\leq 90$
	30	$\sim 85$
	20	$\sim 70$
	10	0
90	100	$\leq 95$
	20	$\leq 95$
	10	80
	5	0

され数多くのもが不斉合成に広く応用されるようになることを確信する。ZACA 反応と競合する触媒的不斉反応として前記の野依還元<sup>10)</sup> や Feringa 共役付加反応<sup>26)</sup> の他にも Burgess 等<sup>37)</sup> の Ir 触媒を用いたオレフィンの不斉還元も着目に値する。

二・三十年前にはすべてのキラルな有機化合物を不斉合成する日はいつ来るであろうかと夢のように考えていたがその日は近いと云えよう。むしろ今日のより重要な関心事はいかに能率良く、高選択的に、かつ経済的にキラル有機化合物を不斉合成するかにあると思われる。経済的には何と云っても触媒反応の開発が重要で、一モル十萬円の触媒も Turnover number (TON) が 10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、そして 10<sup>5</sup> と高くなるにつれて実用上のコストは百、十、そして一円/モルになる潜在的な長所は量論的な試薬では置き換えることの出来ない魅力である。ZACA 反応の更なる開発と共に新規な触媒的不斉反応の発見開発に大いなる関心を持っている今日このごろである。著者等

Table 2. List of Chiral Compounds That Are Accessible via ZACA Reaction

(A) Compounds not Requiring Enantiomeric Purification

Note : All compounds are of  $\geq 98\%$  ( $\geq 97\%$  in some cases) enantiomeric purity.

Entry	Compound	From	Yield %	No. of steps	Diastereo. Purity (%)	Ref.
1			49	4	$\geq 98$	27
2			40	4	$\geq 98$	27
3		 (\$39/20 g TCl)	44	3	$\geq 98$	27
4			33	3	$\geq 98$	27
5			50	4	$\geq 98$	27
6			50	4	$\geq 98$	27
7			55	1	$\geq 98$	29
8			61	1	$\geq 97$	29
9			50	2	(7/1) not yet purified	30
10			47	2	(4.6/1) not yet purified	30

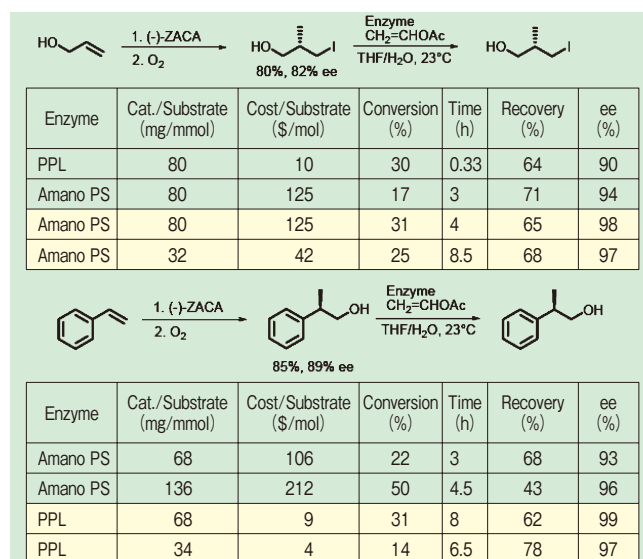
(B) Compounds Requiring Lipase-Catalyzed Acetylation

Note : All compounds are  $\geq 97-98\%$  enantiomerically pure.

Entry	Compound	From	Yield %	No. of steps	Stereo. Purity (%)	Ref.
1			66	1	98	32
2			61	2	98	32
3			67	1	98.5	32
4			60	2	97	32
5			54	1	98	31
6			54	2	98	31
7			45	3	98	31
8			45	3	98	31
9			36	3	98	31
10			50	3	98	32
11			46	1	98	32
12			52	2	98	32

Table 3. Natural Products Synthesized via ZACA Reaction

Natural Product (Year) <sup>Ref.</sup>	Structure
pitamide A (2000) <sup>37</sup>	
vitamin E (2001 and 2002) <sup>20,21</sup>	
vitamin K (2001) <sup>20</sup>	
phytol (2001) <sup>20</sup>	
scyphostatin (side chain) (2004) <sup>29</sup>	
siphonarienal (2004) <sup>28</sup>	
siphonarienone (2004) <sup>28</sup>	
siphonarienolone (2004) <sup>28</sup>	
(+)-sambutoxin (A) (C9-C18) fragment used as a key intermediate) (2004) <sup>28</sup>	
6,7-dehydrostipamide (2004) <sup>34</sup>	
ionomycin (B) (C1-C10 fragment) (2005) <sup>30</sup>	
borrelidin (C) (C3-C11 fragment) (2005) <sup>30</sup>	
preen gland wax of the graylag goose, Anser anser (2006) <sup>31</sup>	
doliculide (D) (C1-C9 fragment) (2006) <sup>31</sup>	
(+)-stellattamide A (side chain) (2007) <sup>32</sup>	
(+)-stellattamide B (side chain) (2007) <sup>32</sup>	
(+)-sambutoxin (A)	
borrelidin (C)	
ionomycin (B)	
doliculide (D)	



Scheme 12.



の研究はNIH、NSF、及びパーデュー大学のサポートの基に行われて来た。著者の報文に共著者として示されている博士課程学生及びポストドクトラルの諸氏の絶大な努力に感謝する。特にZhihong Huang、Bo Liang、及びDr. Gangguo Zhu氏等がスキーム及びテーブルの作成に関与して下さったことに感謝する。

### 【参考文献】

- (a) Zweifel, G., Brown, H. C. : *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 393(1964). (b) Brown, H. C., Ayyangar, N. R., Zweifel, G. : *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 397(1964).
- Nozaki, H., Moriuti, S., Takaya, H., Noyori, R. : *Tetrahedron Lett.*, 5239(1966).
- Hajos, Z. G., Parrish, D. R. : *J. Org. Chem.*, **39**, 1615(1974).
- (a) Brown, H. C., Jadhav, P. K. : *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 2092(1983). (b) Brown, H. C., Bhat, K. S. : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 293 and 5919(1986). (c) Brown, H. C., Jadhav, P. K., Bhat, K. S. : *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1535(1988). (d) Ramachandran, P. V. : *Aldrichimica Acta*, **35**, 23(2002).
- Ojima, I. Ed. : "Catalytic Asymmetric Synthesis, 2nd Ed.", Wiley-VCH, New York, 864 pp(2000).
- Horner, L., Siegel, H., Büthe, H. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **7**, 942(1968).
- (a) Knowles, W. S., Sabacky, M. J. : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1445(1968). (b) Knowles, W. S., Sabacky, M. J., Vineyard, B. D. : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 10(1972).
- Dang, T. P., Kagan, H. B. : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 481(1971).
- Katsuki, T., Sharpless, K. B. : *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5974(1980).
- (a) Takaya, H., Ohta, T., Sayo, N., Kumabayashi, H., Akutagawa, S., Inoue, S., Kasahara, I., Noyori, R. : *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 1596 and 4129(1987). (b) Ohkuma, P., Kitamura, M., Noyori, R. : in Ref. 5, Chap. 1, *Asymmetric Hydrogenation*, p. 1.
- Ogasawara, M., Hayashi, T. : in Ref. 5, Chap. 8F, *Asymmetric Cross-Coupling Reactions*, p. 651.
- Sato, Y., Sodeoka, M., Shibasaki, M. : *J. Org. Chem.*, **54**, 4738(1989).
- Carpenter, N. E., Kucera, D. J., Overman, L. E. : *J. Org. Chem.*, **54**, 5846(1989).
- (a) Tsuji, J., Takahashi, H., Morikawa, M. : *Tetrahedron Lett.*, 4387(1965). (b) Hata, G., Takahashi, K., Miyake, A. : *Chem. Commun.*, 1392(1970). (c) Trost, B. M. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **28**, 1173(1989).
- Trost, B. M., Lee, C. : in Ref. 5, Chap. 8E, *Asymmetric Allylic Alkylation Reactions*, p. 593.
- Van Horn, D. E., Negishi, E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 2252(1978).
- Kondakov, D., Negishi, E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 10771(1995).
- Erker, G., Aulbach, M., Knickmeier, M., Wingbermuehle, D., Krüger, C., Nolte, M., Werner, S. : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4590(1993).
- Kondakov, D., Negishi, E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 1577(1996).
- Huo, S., Negishi, E. : *Org. Lett.*, **3**, 3253(2001).
- Huo, S., Shi, J., Negishi, E. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2141(2002).
- Evans, D. A., Dow, R. L., Shih, T. L., Takacs, J. M., Zahler, R. : *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5290(1990).
- (a) Myers, A. G., Yang, B. H., Chen, H., McKinstry, L., Kopecky, D. J., Gleason, J. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 6496(1997). (b) Myers, A. G., Yang, B. H., Chen, H., Kopecky, D. J. : *Synlett*, 457(1997).
- Abiko, A., Masamune, S. : *Tetrahedron Lett.*, **37**, 1081(1996).
- Birkbeck, A. A., Enders, D. : *Tetrahedron Lett.*, **39**, 7823(1998).
- (a) Schuppen, J., Minnaard, A. J., Feringa, B. L. : *Chem. Commun.*, 792(2004). (b) van Summeren, R. P., Reijmer, S. J. W., Feringa, B. L., Minnaard, A. J. : *Chem. Commun.*, 1387(2005). (c) López, F., Minnaard, A. J., Feringa, B. L. : *Acc. Chem. Res.*, **40**, 179(2007).
- Negishi, E., Tan, Z., Liang, B., Novak, T. : *Proc. Natl. Akad. Sci. USA*, **101**, 5782(2004).
- Magnin-Lachaux, M., Tan, Z., Liang, B., Negishi, E. : *Org. Lett.*, **6**, 1425(2004).
- Tan, Z., Negishi, E. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 2911(2004).
- Novak, T., Tan, Z., Liang, B., Negishi, E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 2838(2005).
- Liang, B., Novak, T., Tan, Z., Negishi, E. : *Am. Chem. Soc.*, **128**, 2770(2006).
- Huang, Z., Tan, Z., Novak, T., Zhu, G., Negishi, E. : *Adv. Synth. Catal.*, **349**, 539(2007).
- (a) Corey, E. J., Enders, D., Bock, M. G. : *Tetrahedron Lett.*, **1**, 7(1976). (b) Schlessinger, R. H., Poss, M. A., Richardson, S., Lin, P. : *Tetrahedron Lett.*, **26**, 2391(1985). (c) Desmond, R., Mills, S. G., Volante, R. P., Shinkai, I. : *Tetrahedron Lett.*, **29**, 3895(1988).
- Zeng, X., Zeng, F., Negishi, E. : *Org. Lett.*, **6**, 3245(2004).
- (a) Delinck, D. L., Margolin, A. L. : *Tetrahedron Lett.*, **31**, 6797(1990). (b) Ferraboschi, P., Brembilla, D., Grisenti, P., Santaniello, E. : *Synlett*, 310(1991). (c) Barth, S., Effenberger, F. : *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, **4**, 823. (d) Bacsko, K., Larpent, C. : *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 521(2000). (e) Nordin, O., Nguyen, B.-V., Vörde, C., Hendenström, E., Högberg, H.-E. : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 367(2000). (f) Larsson, M., Nguyen, B.-V., Högberg, H.-E., Hendenström, E. : *Eur. J. Org. Chem.*, **2**, 353(2001).
- (a) Chen, C.-S., Fujimoto, Y., Girdaukas, G., Sih, C. J. : *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 7294(1982). (b) Chen, C.-S., Sih, C. J. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **28**, 695(1989).
- (a) Wipf, P., Ribe, S. : *Org. Lett.*, **2**, 1713(2000). (b) Ribe, S., Kondru, R. K., Beratan, D. N., Wirf, P. : *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 4608(2000).
- (a) Zhou, J., Burgess, K. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 1129(2007). (b) Zhou, J., Zhu, Y., Burgess, K. : *Org. Lett.*, **9**, 1391(2007).

## Products

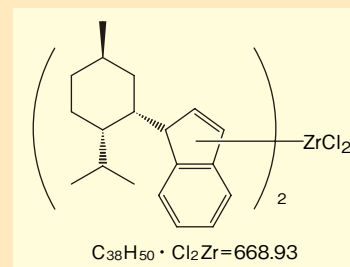
### 有機合成用試薬

Wako

(-)-ビス[1-[(1'S, 2'S, 5'R)-2'-イソプロピル-5'-メチルシクロヘキシル]インデンル]ジルコニウム(IV)ジクロリド [(-)-(NMI)<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub>]

本品はネオメンチル基を有する光学活性なジルコニウム触媒です。アルキルアルミ試薬の末端アルケンへの不斉カルボアルミ化反応に高い活性を示します。本反応を繰り返し用いることで、ビタミンE、ビタミンKなどの天然物を、高い収率及び立体選択性で合成することができます。

CAS No. : 148347-88-0



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
025-15981	(-)-Bis[1-[(1'S, 2'S, 5'R)-2'-isopropyl-5'-methylcyclohexyl]indenyl]zirconium(IV) Dichloride	有機合成用	200mg	19,500



### 1 タンパク質内の変化を光で読み取る

生体内の多くのタンパク質はタンパク質相互作用やリガンドの結合、リン酸化などの様々な修飾に反応して高次構造の変化を示す場合が多い。タンパク質の高次構造変化は時として生体内のシグナルカスケードを制御する非常に重要なスイッチの役割を担っている。以前より、タンパク質内の構造変化は主にX線による結晶構造解析や核磁気共鳴 (NMR) による解析を中心に行われてきており、近年では分析機器の飛躍的な性能の向上によって大幅な分解能の向上を遂げている。しかしながら、これらの手法では解析対象となるタンパク質を精製した上で、結晶化やNMRサンプルの調製といったわずらわしい問題が依然として存在している。今後、創薬スクリーニングやプロテオーム解析の進展に伴い高まるタンパク質の構造解析技術としては簡便な方法論の開発も並行して望まれる。簡便なタンパク質の構造変化あるいはタンパク質間の相互作用の解析法として以前よりタンパク質の蛍光分子標識による方法が用いられている。この方法は対象とするタンパク質にリガンド結合や他のタンパク質との相互作用によって生じる環境変化をタンパク質内に共有結合を介して標識した低分子蛍光化合物の蛍光特性 (蛍光強度、ピーク波長など) の変化として捉えるものである。標識された蛍光色素はリガンドの結合や他のタンパク質との相互作用によって惹起されるタンパク質内のアミノ酸の主鎖や側鎖の空間的な変化に伴って生じる蛍光色素周辺の疎水性の程度や静電的な環境の変化等を捉えているのではないかと推測されている。したがって、この方法に用いられる蛍光物質は特にその蛍光量子収率やスペクトルが溶媒の誘電率によってかなり大きな差を示すものが適していると考えられる。

タンパク質への蛍光色素の標識は内

因性あるいは変異導入したシステイン残基への選択的標識によって行う。システインのチオール基 (-SH基) と選択的に反応する置換基であるハロアセタミドやマレイミドを有する蛍光色素と室温以下の穏やかな反応条件で標識することができる。特に特定の場所での環境変化の測定は既存のアミノ酸を点変異導入によってシステインに置換し、そこへ蛍光色素を標識することによって実現できる。標識した蛍光色素は標識されたタンパク質がリガンドを結合したり、他のタンパク質と相互作用をしたりした際に生じたタンパク質内の局所的な環境変化を感じ、蛍光特性の変化として検出できる可能性がある。この現象を利用して試験管内でのタンパク質の動的な振る舞いをリアルタイムに追跡が可能であり、タンパク質内の疎水ポケットの研究や、タンパク質相互作用に伴う高次構造変化に関する研究に広く用いられてきた。この目的に叶う色素としては蛍光色素 Prodan がヘキサソールと水中では大きなスペクトル変化を示すという知見<sup>1)</sup>を基にして Prendergastらによって開発されたアク

リロダンが広く知られている<sup>2)</sup>。アクリロダンはチオールと特異的な反応性を示すアクリル基を有し、ジメチルアミノナフタレンを骨格とする蛍光色素である (図1)。水中では360nmに吸収極大を有し、540nmに蛍光の極大を示すが、エタノール中では387nmに吸収極大を有し、502nmに蛍光極大を示す。このようなアクリロダンの分光学的性質の非常に大きな溶媒効果を利用してParvalbuminやTroponin Cとアクリロダンの蛍光複合体を用いて、これらのタンパク質がカルシウムと結合した際の構造変化を蛍光極大波長の変化を基に解析が行われている。アクリロダン以外にもNBD誘導体やIAANSも環境感受性色素として広く用いられ、タンパク質の高次構造変化の研究に用いられている (図1)。

### 2 生体物質の蛍光性センサーとして

生体物質を選択的かつ高感度に検出し定量することは日常の研究の場面で多く生じるニーズである。しかしながら、現

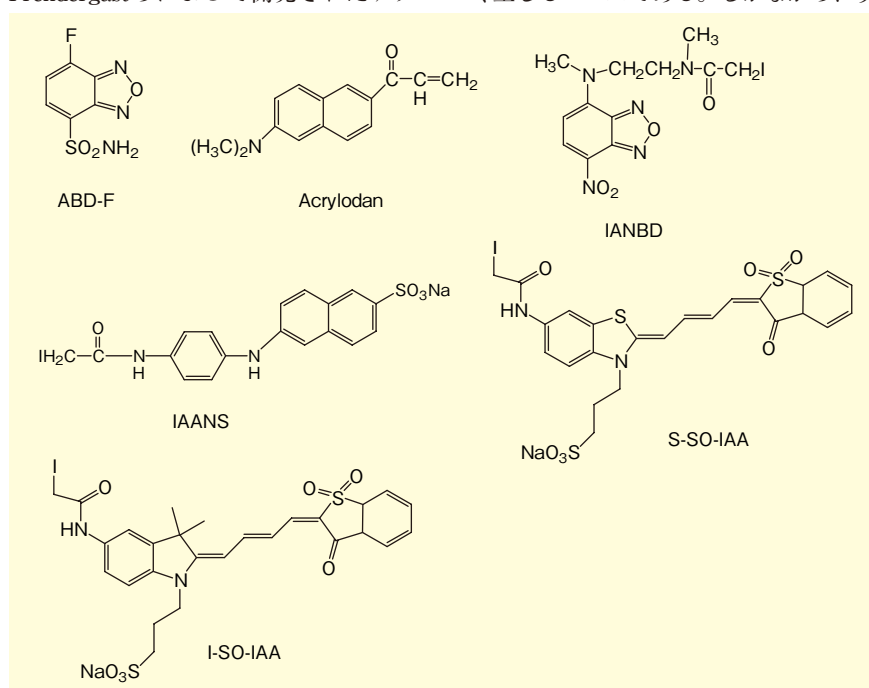


図1. 環境感受性蛍光色素

I-SO-IAAとS-SO-IAA以外は紫外・近紫外領域光で励起を行う。I-SO-IAAとS-SO-IAAは600nm付近の励起光を用いることができるため、非常に幅広い用途に用いることができる。

在までに低分子の有機化合物で高感度かつ選択的に生体物質の認識をすることはカルシウムイオン等の一部の分子を除いては実現できていない。この問題に対しては生体内で日常的に特定のリガンドやタンパク質を認識して生理機能の制御をおこなっているタンパク質をセンサーとして用いることが、1つの解決法となりうる。標的とする生体分子を高感度かつ選択的に結合するタンパク質もしくはその一部のリガンド認識ドメインのリコンビナントタンパク質と環境感受性蛍光色素の蛍光複合体を標的リガンド分子の蛍光センサーとして用いることが可能である。現在までにこの原理を利用して多くの生体物質あるいはタンパク質修飾のセンサーが作製されてきた<sup>3-5)</sup>。しかしながら、現在まで用いられている多くの色素は紫外あるいは近紫外領域の励起光を用いなくてはならず、サンプルに存在する夾雑物による吸収や蛍光が測定上の障害となる場合が考えられた。近年では可視領域での光での励起が可能な蛍光センサーも開発されており、より精度の高い生体分子の定量が実現しつつある。我々はOregon Greenとグルタミン酸受容体のグルタミン酸結合ドメインの複合体からなるグルタミン酸の蛍光センサー、EOSを開発した<sup>6)</sup>。EOSは可視光(490nm付近)での励起が可能であり、非常に強い蛍光を発する。EOSはグルタミン酸の結合に伴い最大で37%の蛍光強度の上昇を示す。また、グルタミン酸との解離定数は148 nMであり、非常に高感度でのグルタミン酸の検出を可能にした。また、長年望まれていた可視光領域の光での励起が可能な有望な環境感受性色素がHahnらによって報告された。新規に開発された環境感受性色素(I-SO-IAAとS-SO-IAA)はいずれもメロシアン骨格とタンパク質内のシステインとの反応の為にIodoacetamideを有している<sup>7)</sup>。I-SO-IAAの蛍光量子収率は非常に大きな溶媒依存性を示し、(ブタノール中では蛍光量子収率が水中の15倍になる)、タンパク質に標識し

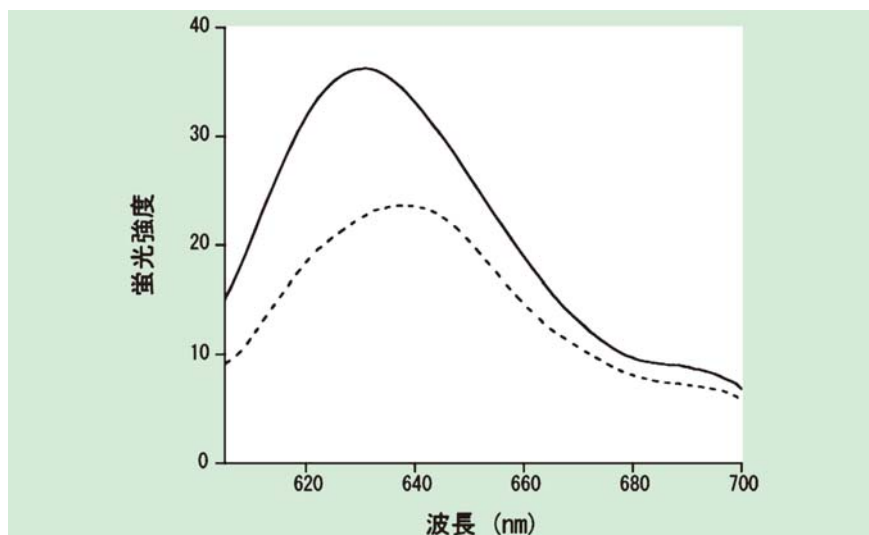


図2. グルタミン酸受容体グルタミン酸結合ドメインとI-SO-IAAとの蛍光複合体  
グルタミン酸受容体GluR2のグルタミン酸受容体のグルタミン酸結合ドメインと環境感受性色素I-SO-IAAとの蛍光複合体のグルタミン酸結合に伴う蛍光スペクトル変化。グルタミン酸非存在下(実線)に比べ過剰量のグルタミン酸の存在下(破線)で約35%の蛍光強度の減少が見られた。

たこれらの蛍光色素周辺の微小な環境変化を感度良く捉えることが期待できる。実際、HahnらはWASPタンパク質にS-SO-IAAやI-SO-IAAを結合させ、活性化型Cdc42との結合に際して生じるWASP内の構造変化を捉えることに成功している<sup>7)</sup>。I-SO-IAAはグルタミン酸センサーの作製にも非常に有用であり、我々が作製した蛍光性グルタミン酸センサーのOregon GreenをI-SO-IAAに置き換えることによってグルタミン酸結合に伴う蛍光強度の最大変化量が約35%のものを得ることができた(図2)。

### 3 細胞機能の可視化解析への応用

細胞機能を理解するためには細胞内外の機能分子が「いつ、どこで」活性化したり、濃度が上昇したりするかという時空間的な振る舞いを知ることが重要である。このような目的に対しては蛍光顕微鏡システムを用いた蛍光イメージングによって生きた細胞の内外の生体分子の可視化解析=イメージングが大きな威力を発揮する。蛍光イメージングには対象とする分子に対する蛍光可視化プローブ

を作製する必要がある。現在までに、カルシウムイオンの細胞内での時空間動態を解析するために多くのカルシウム蛍光指示薬が開発・市販され広く用いられている。また、蛍光タンパク質の蛍光共鳴エネルギー移動を利用した多くの蛍光分子プローブが作製されて生物学的実験に用いられている。これら既存のタイプの細胞機能を可視化解析する蛍光プローブに加えて、環境感受性蛍光色素を用いた蛍光複合体も蛍光可視化プローブ開発の際の非常に有望な戦略のひとつである。環境感受性色素を用いた蛍光性のセンサーを生きた細胞の内外に配置することで細胞の生理的活動に伴う生体物質の時空間動態をリアルタイムにイメージングすることができる。しかしながら、既存の多くの環境感受性蛍光色素を用いた蛍光センサーを用いたイメージングにはいくつかの問題点が伴う。今まで用いられてきた多くの環境感受性蛍光色素は紫外領域の光での励起が必要であり、生じる蛍光もかなり暗い。さらに、それを補うために強い励起光を当ててしまうと著しい退色が起こってしまうという悪循環を引き起こす問題があった。また、紫外線によって生じる強い細胞毒性や細胞の

内在性物質の自家蛍光が実際の測定の際には問題となってくる。この問題に対して我々が作製したOregon Greenを用いたグルタミン酸センサーやHahnらによるCdc42活性化センサーは可視領域光での励起が可能であり、生細胞イメージングへの応用性を非常に高めている。我々は蛍光性グルタミン酸可視化プローブ：EOSを培養海馬神経細胞の細胞膜にビオチン-ストレプトアビジンのリンカーを介して結合させ、神経活動に依存してシナプスから放出されるグルタミン酸の動態を優れた空間解像度で画像解析することに成功した<sup>6)</sup>。また、Hahnらは前述したISO-IAAとWASPタンパク質の蛍光複合体をインジェクションしたMEF細胞が移動する際のCdc42活性化の過程のイメージングを試みている。彼らはリアルタイムで優れた時空間解像度で細胞内のCdc42の活性化を可視化することによって、細胞が移動する際には細胞の辺縁部でのみCdc42が局所的に活性化する過程を明らかにすることに成功している<sup>8)</sup>。

## 4 今後の課題と展望

生体物質の検出・定量や生細胞での分子イメージング等に環境感受性色素を用いた蛍光センサーの応用範囲は広い。

しかしながら、この方法論での蛍光センサー作製の際には最適な導入箇所、すなわち大きな環境変化を生じる場所の理論的予測が困難であるという問題点がある。複数の蛍光色素と複数のタンパク質との組み合わせで蛍光複合体を作製し、リガンド結合によって生じる蛍光特性変化について調べられているが<sup>9)</sup>、タンパク質内の同じ個所に蛍光標識をしても標識した蛍光色素の種類によってリガンド結合によって生じる変化の程度にはばらつきがある。すなわち、ある蛍光色素の蛍光複合体がリガンド結合によって大きな蛍光特性の変化を生じたとしても同じ個所に別の蛍光色素を導入しても必ずしも同様の結果を保証されるものではない。したがって、性能の良い環境感受性色素の開発・探索と並行して、多くの候補となる蛍光複合体の効率の良い作製・評価法を確立する実験系の確立が今後期待される。

### 【参考文献】

- 1) Weber, G. and Farris, F. J. : "Synthesis and spectral properties of a hydrophobic fluorescent probe : 6-propionyl-2-(dimethylamino) naphthalene.", *Biochemistry*, **18**, 3075-3078 (1979).
- 2) Prendergast, F. G., Meyer, M., Carlson, G. L., Iida, S. and Potter, J. D. : "Synthesis, spectral properties, and use of 6-acryloyl-2-dimethylaminonaphthalene (Acrylodan). A thiol-selective, polarity-sensitive fluorescent probe.", *J. Biol. Chem.*, **258**, 7541-7544 (1983).
- 3) Dattelbaum, J. D. and Lakowicz, J. R. : "Optical determination of glutamine using a genetically engineered protein.", *Anal. Biochem.*, **291**, 89-95 (2001).
- 4) Hirose, K., Takeshima, H. and Iino, M. : "Fluorescent indicators for inositol 1, 4, 5-trisphosphate based on bioconjugates of pleckstrin homology domain and fluorescent dyes.", *Anal. Commun.*, **36**, 175-177 (1999).
- 5) Post, P. L., Trybus, K. M. and Taylor, D. L. : "A genetically engineered, protein-based optical biosensor of myosin II regulatory light chain phosphorylation.", *J. Biol. Chem.*, **269**, 12880-12887 (1994).
- 6) Namiki, S., Sakamoto, H., Inuma, S., Iino, M. and Hirose, K. : "Optical glutamate sensor for spatiotemporal analysis of synaptic transmission.", *Eur. J. Neurosci.*, **25**, 2249-2259 (2007).
- 7) Touthkine, A., Kravynov, V. and Hahn, K. : "Solvent-sensitive dyes to report protein conformational changes in living cells.", *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 4132-4145 (2003).
- 8) Nalbant, P., Hodgson, L., Kravynov, V., Touthkine, A. and Hahn, K. M. : "Activation of endogenous Cdc42 visualized in living cells.", *Science*, **305**, 1615-1619 (2004).
- 9) de Lorimier, R. M. *et al.* : "Construction of a fluorescent biosensor family.", *Protein Sci.*, **11**, 2655-2675 (2002).

## Products

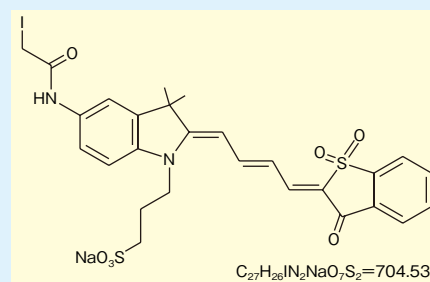


## 環境感受性のタンパク質蛍光プローブ

### I-SO-IAA

I-SO-IAAは、メロシアン骨格とヨードアセトアミドを有する環境感受性のタンパク質蛍光プローブです。その蛍光量子収率は非常に大きな溶媒依存性を示します。そのため、本品を標識したタンパク質のリガンド結合や他のタンパク質との相互作用の強さを環境変化による蛍光強度、ピーク波長の変化として捕らえることができます。

**測定波長** Ex : 600nm, Em : 630nm 付近



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
093-05371	I-SO-IAA	細胞生物学用	5mg	50,000



## 生薬に関わって思うこと —「柴胡さいこ」について—

広島大学薬学部附属薬用植物園 神田 博史

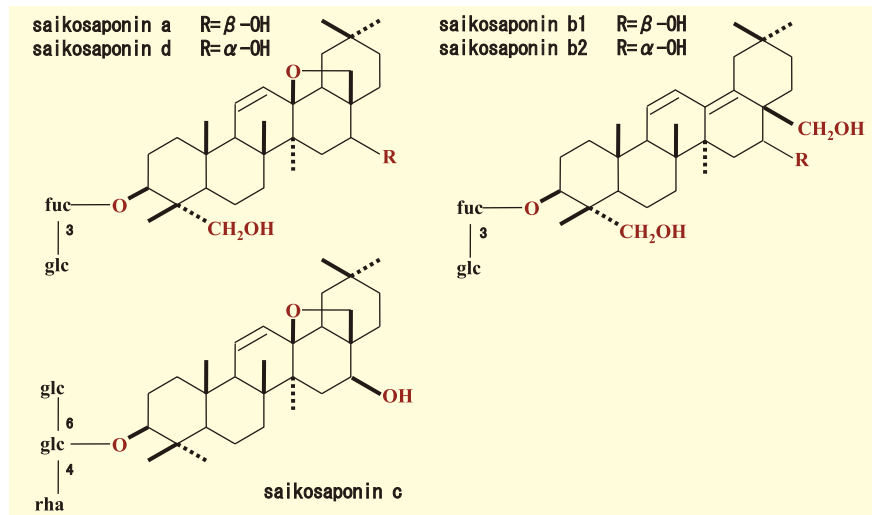
漢方療法などの伝統医療による多大な治療効果は、適確な診断と優良な生薬および生薬製剤の使用によって達成されることは言うまでも無い。しかしながら、漢方及び生薬製剤に用いられる原料の生薬は9割以上が輸入に依存しているのが現状であり、国内においてほぼ自給可能と考えられる輸入率20%以下の生薬は30品目程度しかない。近年、これら生薬において、品質の低下や野生薬用植物の資源枯渇の恐れが出てきている。そのため生薬の材料となる薬用植物の安定的な生産、あわせて品質の均一性の向上が望まれている。同時に薬用植物栽培技術の指導などについても各方面から要請がなされてきている。一方、採取される野生の薬用植物の中には、種の種類が未だ不確定な物があり、また同一種とされる物においても植物形態、含有成分、含有量の異なることがあり、大きな問題になっている。このような多様性が植物の生育環境の違いによって生じているものであるのか、植物自身が本来持つ遺伝的な特性であるのか、今までのところ明確にはされていないものが多くある。医薬品材料を考えた場合、基原植物が明確であることは勿論であるが、形質が均一で、化学的に遺伝的にも均質であることは重要なことである。

重要漢方用生薬「柴胡は、セリ科植物 *Bupleurum falcatum* ミシマサイコの根を基原とする」と日本薬局方にある。歴史的には、神農本草経の上薬に「此胡」の名で記載され、本草経集注には「生薬前胡に類似する」とある。変遷はあるものの、現在では局方収載植物が基原植物として異論のないところである。「柴胡」の配合された漢方処方には「柴胡剤」と称され、胸脇苦満（胸脇部の圧迫した不快感）を目標とされ投与され、特にわが国では「小柴胡湯」をはじめ賞用される。柴胡の需要も急激に増加し、年間使用量の80%余りは中国からの輸入品で頼っている。柴胡の品質もほかの生薬と同様かなりの問



題がある。柴胡として現市場品として出回っているものは中国輸入品の「唐柴胡（北柴胡と津柴胡）」とわが国の栽培品である「和柴胡」、それに僅かばかりの「韓国産柴胡（植柴胡と山柴胡）」に大別できる。唐柴胡の多くは北柴胡で、北柴胡系とは一般的に揚子江以北に産する *B. chinense* である。産地は甘粛省、陝西省、湖北省、河南省付近である。その他、津柴胡（南柴胡；狭葉柴胡 *B. scorzoneraefolium*）がある。北柴胡は繊維質でポキッと折れるが、津柴胡は北柴胡に比べて多少柔らかい。私が聞いている品質の良い柴胡とは、「細長く鼠の尾のようで、真っ直ぐであり分枝せず、しなやかで僅かに良い香りがあり、色合いも赤黒色で内部は

淡褐色の物」である。にもかかわらず北柴胡は褐色で香りは殆どない。なぜこのようなものが出回るのか。あるときから柴胡の漢方製剤の品質の評価法として生理活性物質のサイコサポニン類（特に a, d）が注目され、なんでもかんでもサイコサポニン類となってきた。事実様々な活性が明らかになり、柴胡の言われている薬理効果もサイコサポニン類で説明できるものも結構ある。その結果柴胡の品質はいつのまにか強い活性が報告されているサイコサポニン-a, dが多ければよいということになった。香り成分としての単一物質の単離や生理活性についての報告がつい最近までなかったこともあり、市場品としてサイコサポニン類の多いもの



サイコサポニンの構造式



が捜され北柴胡となったのである。北柴胡より香りが高く、それまで主流であった津柴胡はサイコサポニン類が少ないということのいつの間にか市場から少なくなった。香り、色合い、しなやかさの面からは日本産ミシマサイコが優れている。昭和30年前後に静岡県、神奈川県で野生品が乱獲され、さらには最近の乱開発のため野生品が枯渇してしまい、野生品の市場性はなくなってしまった。あるメーカーは国内の各地で契約栽培をし、除草、調製など苦労されながら立派な製品を作られ、成果をあげられている。しかしながら、中国の柴胡は日本の数分の一以下の価格とも聞いており、業者のかなりの保証なしでは栽培化の確立は難しい。最近、柴胡の香りに注目し、精油成分と、脂溶性成分の指標となるとヘキサエキス (He), エーテルエキス (Ee) を検討してみた。結果は、市場品の北柴胡にはほとんど精油は認められず、エキスにおいても非常に低い値であった (He : 1.5~2%, Ee : 1.5~2.5%)。一方、日本産柴胡にはかなりの精油量が認められ、エキスにおいては (He : 3.3~4.3%, Ee : 4.1~4.8%) と北柴胡のほぼ2倍の値であった。なお、津柴胡は両者の中間程度の値であった (He : 1.9~2.4%, Ee : 2.6~2.8%)。北柴胡と津柴胡のこの結果は、サイコサポニン類の含量と全く逆となった (北柴胡 : a, 0.62%, d, 0.72% ; 津柴胡 : a, 0.23%, d, 0.28%)。

最近、植物の分類をDNAレベル (遺伝子レベル) で判断することが可能と

なってきた。これまで日本各地を歩き回ってきて同じミシマサイコと言われながら、かなり形態が違う物があることに気がついていた。太田、大橋、水上先生らによって染色体レベルで日本の野生ミシマサイコは大きく3つに分けられると報告された (北九州産  $2n=20$ 、瀬戸内産  $2n=32$ 、他  $2n=26$  (栽培品))。さらに、中国の *B. falcatum* といわれているものとも違うことが明らかとなったし、DNAレベルでも差が明らかとなってきた。もともと *B. falcatum* の学名はヨーロッパ産の植物について当てられたものであり、日本産のものとは形態的にかなりの差があることは佐竹先生によって報告されていた。サイコサポニン量から判断すると、わが国に自生するミシマサイコのうち、北九州平尾台や山口秋吉台に産する  $2n=20$  のタイプが栽培品や他の自生地と比べて、1.5~2倍でだん

とつである。またこれまでは、市場に見られる栽培品は2年生の栽培品ミシマサイコであったが、最近では、2月に播種してその年の12月からよく年2月までのあいだに収穫する方法が一般化している。栽培する手間から考えると1年物が手間がいらぬし、畑も効率的に使える。確かにサイコサポニン類は1年物と2年物とではほとんど変化はない (1年物 a : 0.47%, c : 0.12%, d : 0.45%, T : 1.04% ; 2年物 a : 0.52%, c : 0.15%, d : 0.43%, T : 1.10% : )。重量は勿論2年物のほうがあるが面積辺りの収穫量からすると、1年物のほうが高い傾

向にある。生薬切片を観察すると精油の数は断然2年物のほうが沢山見られ、精油成分量は高い (ガスクロマトグラムによる精油成分の比較においては、1年物の各ピーク全てにおいて、2年物は1~3倍の量であった)。つまり香り十分である。

分類学的、科学的にミシマサイコの実態が明らかとなりつつある。しかしながら、どのようなミシマサイコないしは植物材料を、どのように栽培したらよいのか。栽培種となると化学的評価が高いことは勿論であるが、均一で収量の上がること、耐病性のあるものなどの条件を備えていなければならない。さらにミシマサイコの問題点は他殖性で、種子による増殖を基本にすると、1系統による極度の純系化が起こり株の弱体化を起こすことが予想される。柴胡に限らず全ての生薬の基原植物において、優良形質を持ち備えた種苗を選ばし、クローン苗を大量に増殖し、五官的評価、化学的評価、臨床的評価に答えられるべき生産が望まれる。

単に研究材料として生薬が使用され報告されているが、同一生薬名においても非常に多様であり、歴史的にこの辺が詳細に明記されないでいることに、疑問を持つところである。

一部、「北柴胡」で臨床効果があったとも聞いている。非常に困難ではあるが、「柴胡剤」の漢方臨床においても、北柴胡、津柴胡、和柴胡、或いは何処何処産市場品とか野生品と明確にされたうえで、研究報告、症例報告があると、品質管理の面で参考になる。

## 日本薬局方規格サイコサポニン類



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
190-13541	Saikosaponin a	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	10mg	23,000
196-14481	Saikosaponin b <sub>2</sub>	局方生薬試験用(成分含量測定用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	34,000
197-14531	Saikosaponin d	局方生薬試験用(成分含量測定用)	10mg	60,000

## サイコサポニン標準品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
197-08421	Saikosaponin c Standard	生薬試験用	10mg	19,600

## ポジティブリスト制関連 動物用医薬品の LC/MS/MS 分析

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 吉田 貴三子

平成18年5月29日、残留基準が設定されていない農薬、動物用医薬品などを含む食品の流通を禁止する「ポジティブリスト制」が施行されてから1年あまりが過ぎました。約800種類の農薬類に基準値が設定され、GC/MS、LC/MS (LC/MS/MS) を用いた一斉試験法が厚生労働省より通知され、各施設で取り組み対応されています。当社では、これら一斉試験法に対応した混合液、標準品、溶媒類、及びGC用、HPLC用カラムなどを販売しています。今回、動物用医薬品の混合液をLC/MS/MS (MRM) 法で分析した例をご紹介します。

厚生労働省より通知された一斉試験法には、“HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅰ(畜水産物)”(89成分)、“HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ(畜水産物)”(33成分)の分析条件が設定されています。動物用医薬品は確認試験としてLC/MS及びLC/MS/MS分析を採用している関係から、HPLC条件、MS検出イオン及び検出限界などの情報は公開されているもの

の、MS/MS検出条件などは各施設の装置で個別に設定する必要があります。また、一斉試験法Ⅰでは、分析カラムに粒子径3µm ODS 充てん剤を充てんした3.0mmφ×150mmが採用され、分析時間は安定化も含めると約50分となっています。私達は分離を損なうことなくLC/MS/MS検出における分析時間の短縮を目的にカラム充てん剤、カラムサイズ及び検出感度について検討しました。検討の結果、本目的に使用するカラムは、Wakopak® Wakosil-II 3C 18 HGが最適で、カラムサイズを3.0mmφ×150mmから2.0mmφ×100mmに変更することにより分析時間を約3分の1に短縮することができ、さらには、検出感度アップの効果も認められました。その時の各カラムサイズに合わせたグラジエント条件とMRMで検出時のクロマトグラムを図1～4に、MS/MS検出イオンを表1、2に示しました。

以上、Wakopak® Wakosil-II 3C 18 HG、2.0mmφ×100mmを使用して設定した一斉分析条件は多検体を取扱うスクリー

ニング検査には有用な方法と考えます。

HPLC分析においては、ピーク形状がシャープであればあるほど各成分の重なりが少なく、実試料分析におけるマトリクスの影響を抑える効果が期待できると考えます。また、HPLC分析条件とMS/MS検出条件の最適化は、定量精度や再現性に重要な要素です。当社では、Wakopak®カラム及び混合液を使用して、ポジティブリスト制関連農薬及び動物用医薬品の一斉分析法の検討をお考えの方に、検出器3200Q TRAP (ABI社)で設定したメソッドの提供が可能ですので、ご一報いただければ幸いです。

### 【参考文献】

- 「食品衛生法等の一部を改正する法律」(平成15年5月30日公布)。
- 「食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験方法について(一部改正)」(平成17年11月29日公布)。

3200Q TRAP メソッド請求先:

[http://wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/article/positivelist\\_2.htm](http://wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/article/positivelist_2.htm)

表 1. PL-1-2(22 sample)

Peak No.	Analyte Peak Name	Analyte Mass Ranges (amu)			Analyte Retention Time (min)	
		Precursor	Product	Mode	3.0mmφ×150mm	2.0mmφ×100mm
1	Lincomycin	407.2	126.3	+	11.0	4.7
2	Sulfacetamide	215.1	92.1	+	11.5	4.7
3	Danofloxacin	358.2	82.2	+	12.9	5.2
4	Clenbuterol	278.2	204.2	+	13.7	5.5
5	Xylazine	221.1	90.1	+	13.6	5.5
6	Pyrimethamine	249.1	177.2	+	15.3	6.0
7	Trichlorfon(DEP)	258.9	109.1	+	15.6	6.1
8	Tilmicosin	869.6	174.2	+	15.5	6.2
9	Tiamulin	494.3	192.1	+	18.8	7.0
10	Prednisolone	361.2	147.0	+	19.4	7.3
11	Hydrocortisone	363.3	121.1	+	19.7	7.3
12	Dexamethasone	393.2	147.2	+	21.5	7.9
13	Emamectin B1a	887.5	158.3	+	25.2	8.9
14	Famphur	326.0	93.1	+	26.2	9.3
15	Fenobucarb(BPMC)	208.2	95.1	+	26.6	9.4
16	Ternephos(Abate)	467.0	125.0	+	34.3	11.8
17	Allethrin	303.2	91.2	+	34.8	11.9
18	Eprinomectin B1a	914.5	186.3	+	35.8	12.2
19	Monensin	688.5	461.4	+	42.5	14.3
1	Florfenicol	357.8	184.8	-	17.6	6.8
2	2-Acetylaminio-5-nitrothiazole	185.9	138.9	-	17.7	6.8
3	Clorsulon	379.7	343.9	-	18.9	7.1

表 2. PL-2-1(24 sample)

Peak No.	Analyte Peak Name	Analyte Mass Ranges (amu)			Analyte Retention Time (min)	
		Precursor	Product	Mode	3.0mmφ×150mm	2.0mmφ×100mm
1	5-Propylsulfonyl-1H-benzimidazole-2-amine	240.1	133.2	+	11.2	4.7
2	Levamisole	207.1	91.2	+	11.3	4.7
3	Thiabendazole	202.1	175.1	+	11.8	4.9
4	Trimethoprim	291.1	230.3	+	12.0	4.9
5	Sulfadiazine	251.1	92.2	+	12.3	5.0
6	Ormetoprim	275.2	123.1	+	12.5	5.1
7	Sulfathiazole	256.0	156.0	+	12.8	5.2
8	Sulfapyridine	250.0	156.2	+	13.2	5.3
9	Sulfamerazine	265.1	92.2	+	13.8	5.5
10	Thiamphenicol	355.9	308.0	+	14.4	5.7
11	Sulfadimidine	279.1	92.1	+	15.0	5.9
12	Sulfamethoxyipyridiazine	281.1	156.1	+	15.0	5.9
13	Sulfamonomethoxine	281.1	156.1	+	16.1	6.2
14	Sulfachlorpyridazine	286.1	157.1	+	16.7	6.4
15	Sulfamethoxazole	254.0	156.0	+	17.5	6.6
16	Sulfadoxine	311.1	156.1	+	17.4	6.6
17	Ethopabate	238.2	136.0	+	19.3	7.2
18	Sulfaginoxaline	301.0	156.2	+	19.4	7.2
19	Sulfadimethoxine	311.1	156.2	+	19.4	7.2
20	Sulfantran	336.1	134.1	+	21.9	7.9
21	β-Trenbolone	271.2	165.3	+	23.2	8.3
22	α-Trenbolone	271.2	165.2	+	23.7	8.5
23	Melengestrol Acetate	397.2	279.4	+	31.3	10.7
1	Zeranol	321.1	277.2	-	24.2	8.7

### [HPLC Conditions]

Column : Wakopak® Wakosil-II 3C 18 HG  
Eluent : A) 0.1% HCOOH in H<sub>2</sub>O\*  
B) 0.1% HCOOH in CH<sub>3</sub>CN\*\*

### Time program :

Column size	B conc.	
	3.0mmφ×150mm	2.0mmφ×100mm
0-35min.	0-10.5min.	1-100%
35-40min.	10.5-12min.	100%
40-50min.	12-22min.	1%

Flow rate : 0.2mℓ/min. at 40°C

Injection vol. : 0.1ppm, 4µℓ (3.0mmφ×150mm),  
3µℓ (2.0mmφ×100mm)

\* LC/MS用酸(約99%) [コードNo.067-04531]

LC/MS用超純水 [コードNo.214-01301]

\*\* LC/MS用 0.1vol% 酸-アセトニトリル [コードNo.062-04721]

### [MS/MS Conditions]

ESI, MRM

IonSpray voltage : 5,500V(pos), -4,500V(neg)  
Temperature : 400°C (pos), 500°C (neg)

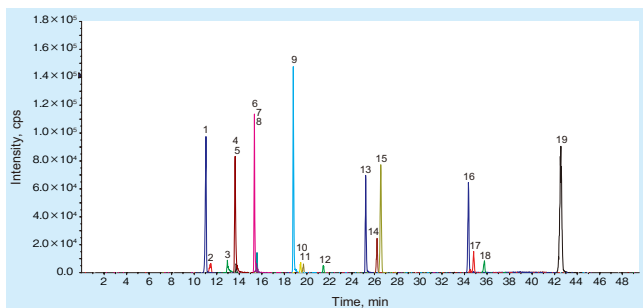
Curtein gas : 20

Collision gas : 6

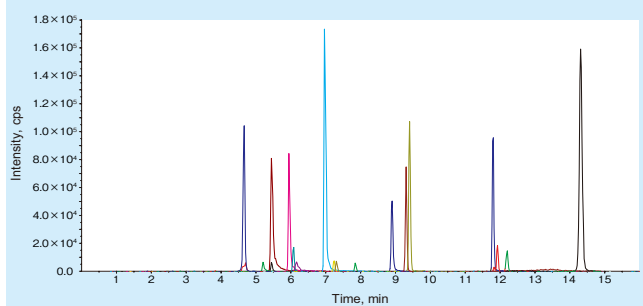
Ion source gas 1 : 50

Ion source gas 2 : 80

System : 3200 Q TRAP (ABI)

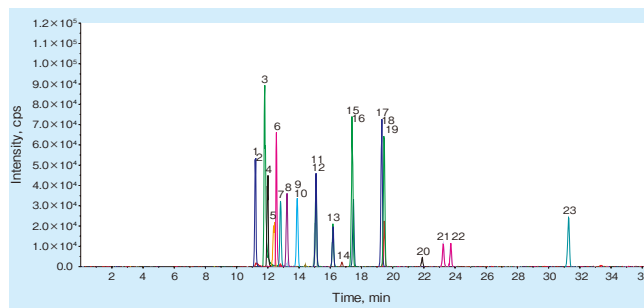


column size 3.0mmφ×150mm

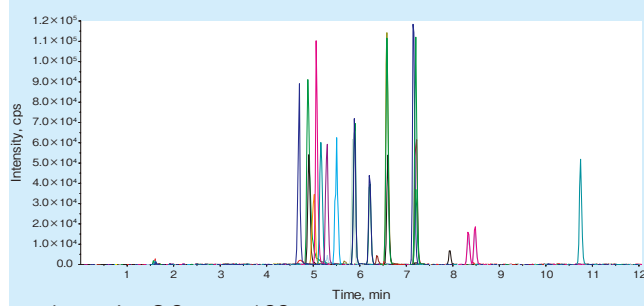


column size 2.0mmφ×100mm

図1. PL-1-2 pos mode (19 sample)

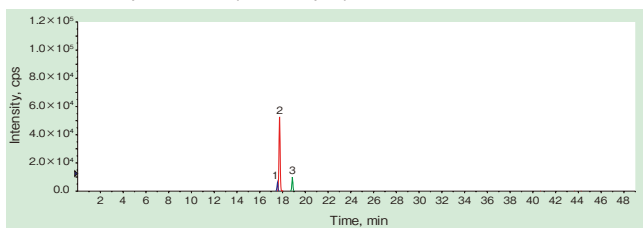


column size 3.0mmφ×150mm

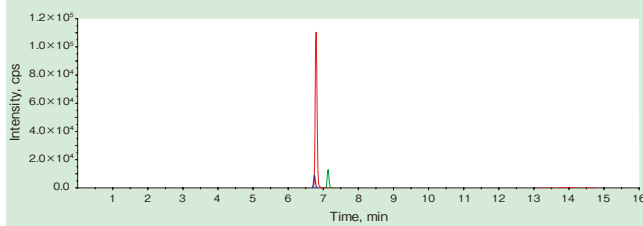


column size 2.0mmφ×100mm

図3. PL-2-1 pos mode (23 sample)

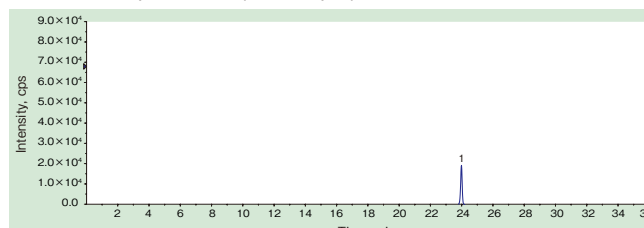


column size 3.0mmφ×150mm

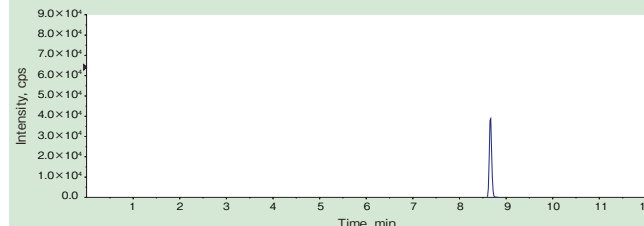


column size 2.0mmφ×100mm

図2. PL-1-2 neg mode (3 sample)



column size 3.0mmφ×150mm



column size 2.0mmφ×100mm

図4. PL-2-1 neg mode (1 sample)

## Products

### ■一斉試験用混合液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
226-01661	動物用医薬品混合液 PL-1-2	HPLC用	1mℓ × 5A	38,000
222-01663	(各 20 μg/mℓ メタノール溶液)		1mℓ	17,000
224-01601	動物用医薬品混合液 PL-2-1	HPLC用	1mℓ × 5A	40,000
220-01603	(各 20 μg/mℓ メタノール溶液)		1mℓ	20,000

### ■カラム

コードNo.	品名	カラムサイズ	希望納入価格(円)
001-00030	Wakopak® Wakosil-II 3C18 HG	3.0mmφ × 150mm 2.0mmφ × 100mm	47,000 照会

### ■LC/MS用溶媒

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-19854	Acetonitrile	LC/MS用	100mℓ	1,900
012-19851			1ℓ	5,600
018-19853			3ℓ	13,000
132-14524	Methanol	LC/MS用	100mℓ	1,050
138-14521			1ℓ	1,600
134-14523			3ℓ	3,450
214-01301	Ultrapure Water	LC/MS用	1ℓ	1,800
210-01303			3ℓ	3,400



### ■LC/MS 溶離液調製用酸類

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-20061	Acetic Acid	LC/MS用	50mℓ	5,500
067-04531	Formic Acid (abt. 99%)	LC/MS用	50mℓ	9,000

### ■LC/MS用調製済み溶離液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-20551	0.1vol% Acetic Acid-Acetonitrile	LC/MS用	1ℓ	5,700
017-20553			3ℓ	13,800
062-04721	0.1vol% Formic Acid-Acetonitrile	LC/MS用	1ℓ	5,700
068-04723			3ℓ	13,800

### ■アンモニウム系溶離液の調製に！

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-21041	1mol/ℓ Ammonium Acetate Solution	HPLC用	100mℓ	6,000
011-21031	1mol/ℓ Ammonium Formate Solution	HPLC用	100mℓ	6,000

## ポジティブリスト 関連標準品

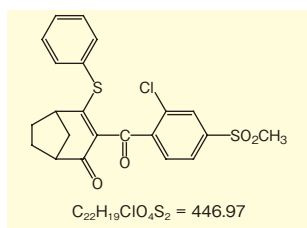
食品衛生法などの一部を改正する法律（平成15年法律第55号）により、食品に残留する農薬、動物用医薬品または飼料添加物に関し、ポジティブリスト制度が導入されました。

この度、残留農薬試験用標準品及びHPLC用動物用医薬品標準品を追加しました。品目は順次追加の予定です。

### 農薬標準品 追加品目

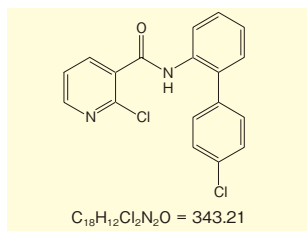
#### ■ベンゾビスシクロン標準品

化学名：3-(2-Chloro-4-mesylybenzoyl)-2-phenylthiobicyclo[3.2.1]oct-2-en-4-one  
CAS No. : 156963-66-5  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：うすい黄褐色結晶性粉末～粉末  
溶解性：水 0.052 (mg/ℓ, 20℃)  
備 考：除草剤



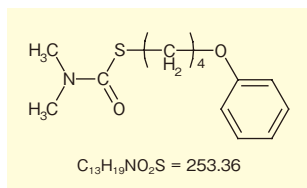
#### ■ボスカリド標準品

化学名：2-Chloro-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide  
CAS No. : 188425-85-6  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶性粉末  
溶解性：水 4.6 (mg/ℓ, 20℃)  
n-ヘプタン <10、メタノール 40-50、アセトン 160-200 (g/ℓ, 20℃)  
備 考：殺菌剤



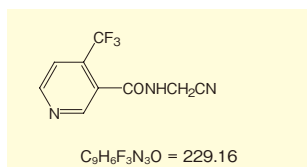
#### ■フェノチオカルブ標準品

化学名：S-4-Phenoxybutyl Dimethylthiocarbamate  
CAS No. : 62850-32-2  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶～結晶性粉末  
溶解性：水 30 (mg/ℓ, 20℃)  
シクロヘキサノン 3,800、アセトニトリル 3,120、アセトン 2,530、キシレン 2,464、メタノール 1,426、ケロセン 80、ヘキサン 66 (g/ℓ, 20℃)  
備 考：ダニ駆除剤



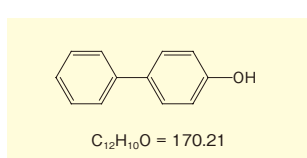
#### ■フロニカミド標準品

化学名：N-Cyanomethyl-4-(trifluoromethyl)nicotinamide  
CAS No. : 158062-67-0  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：ごくうすい灰褐色結晶性粉末  
溶解性：水 5.2 (g/ℓ, 20℃)  
備 考：殺虫剤



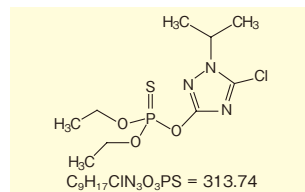
#### ■4-ヒドロキシビフェニル標準品

化学名：p-Phenylphenol  
CAS No. : 92-69-3  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色フレーク  
備 考：ピフェナゼート代謝産物



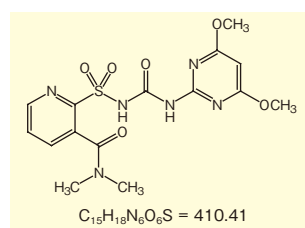
#### ■イザゾホス標準品

化学名：O-5-Chloro-1-isopropyl-1H-1,2,4-triazol-3-yl O,O-Diethyl Phosphorothioate  
CAS No. : 42509-80-8  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：黄色澄明液体  
備 考：殺虫剤



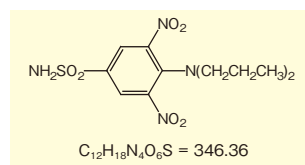
#### ■ニコスルフロン標準品

化学名：2-(4,6-Dimethoxyppyrimidin-2-ylcarbamoylsulfamoyl)-N,N-dimethylnicotinamide  
CAS No. : 111991-09-4  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色粉末  
溶解性：水 0.07 (g/ℓ)  
アセトン 18、エタノール 4.5、クロロホルム 64、ジメチルホルムアミド 64、アセトニトリル 23、トルエン 0.370、ヘキサン <0.02、ジクロロメタン 160 (g/kg, 25℃)  
備 考：除草剤



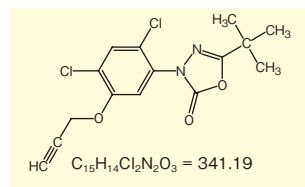
#### ■オリザリン標準品

化学名：3,5-Dinitro-N<sup>4</sup>,N<sup>4</sup>-dipropylsulfanilamide  
CAS No. : 19044-88-3  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：黄みの赤色結晶性粉末  
溶解性：水 2.6 (mg/ℓ, 25℃)  
アセトン >500、アセトニトリル >150、メタノール 50、ジクロロメタン >30、ベンゼン 4、キシレン 2 (g/ℓ, 25℃)  
備 考：除草剤



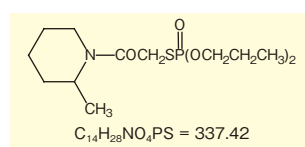
#### ■オキサジアルギル標準品

化学名：5-t-Butyl-3-[2,4-dichloro-5-(prop-2-ynyloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one  
CAS No. : 39807-15-3  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶性粉末～粉末  
溶解性：水 0.37 (mg/ℓ, 20℃)  
備 考：除草剤



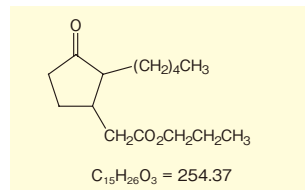
#### ■ピペロホスオキソン標準品

化学名：S-2-Methylpiperidinocarbonylmethyl O,O-Dipropyl Phosphorothioate  
CAS No. : 62987-99-9  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：黄褐色澄明液体  
備 考：ピペロホス代謝産物



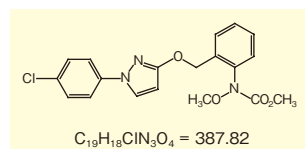
#### ■プロビドロジャスモン標準品(異性体混合物)

化学名：Propyl(3-Oxo-2-pentylcyclopentyl)acetate  
CAS No. : 158474-72-7  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：無色澄明液体  
溶解性：水 60.2 (mg/ℓ)  
ヘキサン、アセトン、メタノール、アセトニトリル、クロロホルム、DMSO、トルエン >100 (g/ℓ, 25℃)  
備 考：植物成長調整剤



#### ■ピラクロストロビン標準品

化学名：Methyl N-[2-[1-(4-Chlorophenyl)-1H-pyrazol-3-yl]oxymethyl]phenyl-(N-methoxy)carbamate  
CAS No. : 175013-18-0  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：黄色結晶性粉末～粉末  
溶解性：水 1.9 (mg/ℓ, 20℃)  
備 考：抗かび剤

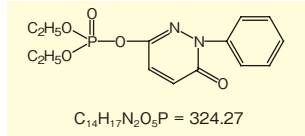


[次頁に続く]



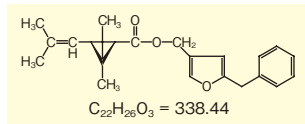
## ■ピリダフェンオキソン標準品

化学名：O-(1,6-Dihydro-6-oxo-1-phenyl-3-pyridazinyl)O,O-Diethyl Phosphate  
CAS No. : 63135-29-5  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：黄色澄明液体  
備 考：ピリダフェンチオンのオキソン体



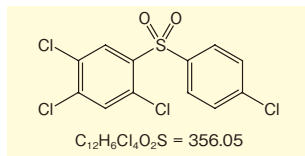
## ■レスメトリン標準品

化学名：5-Benzyl-3-furylmethyl(1*RS*,3*RS* ; 1*RS*,3*SR*)-2,2-Dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate  
CAS No. : 10453-86-8  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：白色粉末  
備 考：殺虫剤



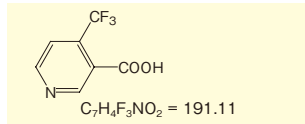
## ■テトラジホン標準品

化学名：4-Chlorophenyl 2,4,5-Trichlorophenyl Sulfone  
CAS No. : 116-29-0  
含量 (cGC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶性粉末  
溶解性：水 0.078 (mg/l, 20°C)  
アセトン 82、ベンゼン 148、クロロホルム 255、シクロヘキサノン 200、ジオキサン 223、ケロゼン 10、メタノール 10、トルエン 135、キシレン 115 (g/l, 10°C)  
備 考：ダニ駆除剤



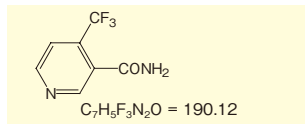
## ■TFNA 標準品

化学名：4-Trifluoromethylnicotinic Acid  
CAS No. : 158063-66-2  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶性粉末  
備 考：フロニカミド代謝産物



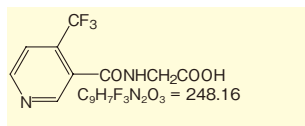
## ■TFNA-AM 標準品

化学名：4-Trifluoromethylnicotinamide  
CAS No. : 158062-71-6  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：ごくうすい黄色結晶性粉末  
備 考：フロニカミド代謝産物



## ■TFNG 標準品

化学名：*N*-(4-Trifluoromethylnicotinyl) glycine  
CAS No. : 207502-65-6  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色粉末  
備 考：フロニカミド代謝産物



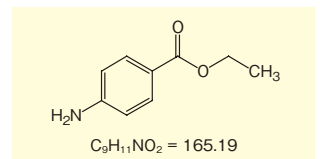
コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
023-15781	Benzobicyclon Standard	残留農業試験用	100mg	25,000
027-15821	Boscalid Standard	残留農業試験用	100mg	15,000
067-04891	Fenothiocarb Standard	残留農業試験用	200mg	6,000
060-04881	Flonicamid Standard	残留農業試験用	200mg	15,000
086-08501	4-Hydroxybiphenyl Standard	残留農業試験用	200mg	8,000
095-05451	Isazofos Standard	残留農業試験用	200mg	15,000
143-08401	Nicosulfuron Standard	残留農業試験用	200mg	20,000
158-02651	Oryzalin Standard	残留農業試験用	200mg	16,000
155-02661	Oxadiazyl Standard	残留農業試験用	100mg	30,000

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
168-22851	Piperophos Oxon Standard	残留農業試験用	50mg	30,000
166-22891	Prohydrojasmon Standard (mixture of isomers)	残留農業試験用	200mg	20,000
163-22921	Pyraclostrobin Standard	残留農業試験用	200mg	18,000
165-22861	Pyridaphenoxon Standard	残留農業試験用	50mg	30,000
182-02071	Resmethrin Standard	残留農業試験用	200mg	13,000
208-16651	Tetradifon Standard	残留農業試験用	200mg	11,000
205-16781	TFNA Standard	残留農業試験用	50mg	15,000
202-16791	TFNA-AM Standard	残留農業試験用	50mg	15,000
208-16771	TFNG Standard	残留農業試験用	50mg	15,000

## ■動物用医薬品標準品 追加品目

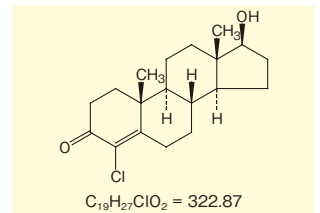
### ■ベンゾカイン標準品

化学名：Ethyl 4-Aminobenzoate  
CAS No. : 94-09-7  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶～結晶性粉末



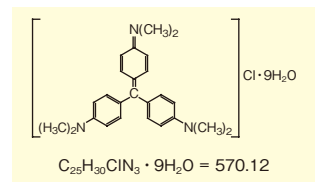
### ■クロステボル標準品

化学名：(17β)-4-Chloro-17-hydroxy-androst-4-en-3-one  
CAS No. : 1093-58-9  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色結晶性粉末～粉末



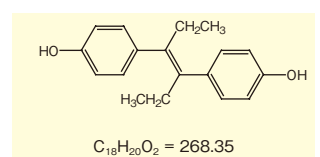
### ■クリスタルバイオレット標準品

化学名：*N*-[4-[Bis(4-(dimethylamino)phenyl)methylene]-2,5-cyclohexadien-1-ylidene]-*N*-methylmethanaminium Chloride Nonahydrate  
CAS No. : 548-62-9(無水物)  
含量 (HPLC) : 94.0% 以上  
外 観：暗黄緑色結晶～結晶性粉末



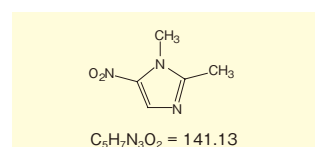
### ■ジエチルスチルベストロール標準品

化学名：(*E*)-3,4-Bis(*p*-hydroxyphenyl)-3-hexene  
CAS No. : 56-53-1  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：白色粉末



### ■ジメトリダゾール標準品

化学名：1,2-Dimethyl-5-nitro-1*H*-imidazole  
CAS No. : 551-92-8  
含量 (HPLC) : 98.0% 以上  
外 観：ごくうすい黄色結晶性粉末



[次頁に続く]

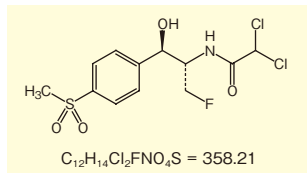
## ■フロルフエニコール標準品

化学名: 2,2-Dichloro-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-(fluoromethyl)-2-hydroxy-2-[4-(methylsulfonyl)phenyl]ethyl]acetamide

CAS No.: 73231-34-2

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色結晶性粉末~粉末



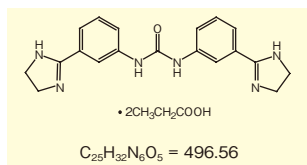
## ■ジプロピオン酸イミドカルブ標準品

化学名: *N,N'*-Bis[3-(4,5-dihydro-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl]urea Dipropionate

CAS No.: 55750-06-6

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色粉末



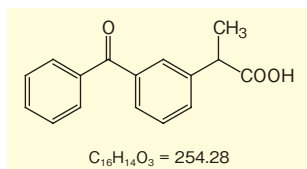
## ■ケトプロフェン標準品

化学名: 3-Benzoyl- $\alpha$ -methylbenzeneacetic Acid

CAS No.: 22071-15-4

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色粉末



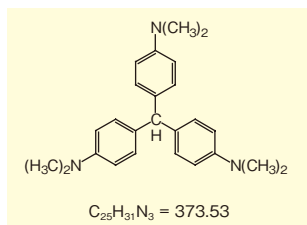
## ■ロイコクリスタルバイオレット標準品

化学名: 4,4',4''-Tris(*N,N*-dimethylaminophenyl)methane

CAS No.: 603-48-5

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: わずかにうすい紫灰色結晶性粉末



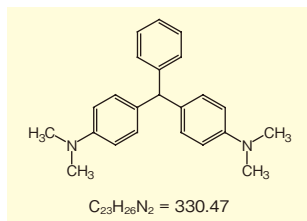
## ■ロイコマラカイトグリーン標準品

化学名: 4,4'-Bis(dimethylamino)triphenylmethane

CAS No.: 129-73-7

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色粉末~塊



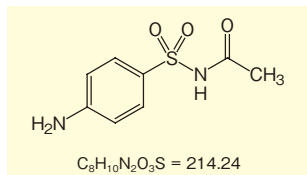
## ■スルファセタミド標準品

化学名: *N*-[(4-Aminophenyl)sulfonyl]acetamide

CAS No.: 144-80-9

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色結晶性粉末



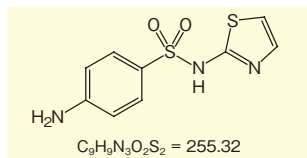
## ■スルファチアゾール標準品

化学名: 4-Amino-*N*-2-thiazolylbenzenesulfonamide

CAS No.: 72-14-0

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色結晶性粉末



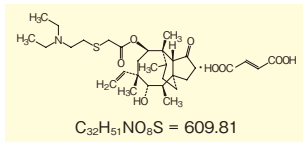
## ■フマル酸チアムリン標準品

化学名: [3 $\alpha$ S-(3 $\alpha$ , 4 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ , 8 $\beta$ , 9 $\alpha$ , 9 $\alpha$ , 10*S*<sup>+</sup>)]-[(2-(Diethylamino)-ethyl)thio]acetic Acid 6-Ethenyldecahydro-5-hydroxy-4,6,9,10-tetra-methyl-1-oxo-3 $\alpha$ ,9-propano-3*H*-cyclopentacycloocten-8-yl Ester (*E*)-2-butenedioate

CAS No.: 55297-96-6

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色粉末



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
020-15791	Benzocaine Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
034-20141	Clostebol Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
032-20201	Crystal Violet Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
048-30111	Diethylstilbestrol Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
047-30181	Dimetridazole Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
060-05001	Florfenicol Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	15,000
092-05461	Imidocarb Dipropionate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
111-00741	Ketoprofen Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	9,000
120-05371	Leucocrystal Violet Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
121-05301	Leucomalachite Green Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	15,000
192-14581	Sulfacetamide Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
197-14651	Sulfathiazole Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	5,000
201-16881	Tiamulin Fumarate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	9,000

## ■その他標準品

### ■アガリチン水和物標準品

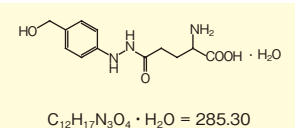
アガリチンはアガリクス属のキノコ類に含まれているフェニルヒドラジン誘導体であり、その毒性がかねてより指摘されています。

化学名:  $\beta$ -*N*-[ $\gamma$ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethylphenylhydrazine Monohydrate

CAS No.: 2757-90-6 (無水物)

含量 (HPLC): 95.0% 以上

外 観: 白色粉末



### ■ $\alpha$ -リポ酸標準品

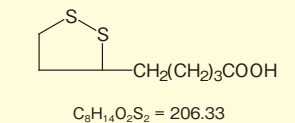
本品は液体クロマトグラフ法によって $\alpha$ -リポ酸の含量を保証した商品です。

化学名: (±)-1,2-Dithiolane-3-valeric Acid

CAS No.: 1077-28-7

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 黄色結晶性粉末



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
018-21281	Agaritin Monohydrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	30,000
124-05411	$\alpha$ -Lipoic Acid Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000

## Presep<sup>®</sup> シリーズ C18(ODS) Wako

ご好評いただいております、Presep<sup>®</sup>-C C18 (ODS) にショートタイプカートリッジ (Short) 及びシリンジタイプの Type M を追加しました。

最近ではポジティブリスト制度の導入により、食品中の残留農薬試験の前処理で、これらのサイズの ODS カラムが使用されています。



### 仕様

	粒子径	細孔径	細孔容量	比表面積	充てん量
Presep <sup>®</sup> -C C18(ODS) (Short)	63~212 μm	120 Å	0.8ml/g	270m <sup>2</sup> /g	0.47g
Presep <sup>®</sup> -C C18(ODS)					0.85g
Presep <sup>®</sup> C18(ODS) Type M (5g/25mℓ)					5g

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-47451	Presep <sup>®</sup> -C C18(ODS)(Short)	試料前処理用	10個×5	25,000
292-32251	Presep <sup>®</sup> -C C18(ODS)	試料前処理用	10個×5	25,000
291-48554	Presep <sup>®</sup> C18(ODS)	試料前処理用	10個×2	40,000
297-48551	Type M(5g/25mℓ)		10個×5	照会

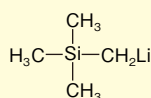
## アルキル金属



### (トリメチルシリル)メチルリチウム・ヘキサン溶液

アルキル金属化合物です。シクロシロキサンの重合開始剤など有機合成用試薬として使用されます。

濃度：1 mol/ℓ ヘキサン溶液



LiCH<sub>2</sub>Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>=94.16

※結晶が析出する場合があります。その場合は、周囲から約40℃で暖めて溶解させてご使用下さい。

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
207-16501	(Trimethylsilyl)methyl lithium	100 mℓ	19,000
209-16505	Hexane Solution	500 mℓ	照会

## 日本薬局方規格

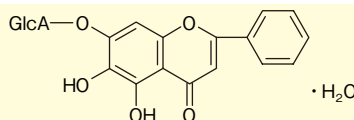
### 生薬標準類

### バイカリン

オウゴンの確認試験用指標成分として用いられます。オウゴンはコガネバナの周皮を除いた根であり、漢方では消炎、利尿、解熱などの目的で配合され、充血性の炎症の抑制などに用いられています。

起 源：Scutellaria baicalensis Georgi (Labiateae)

CAS No.：21967-41-9



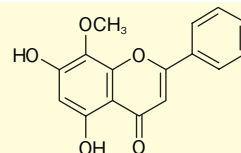
C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>·H<sub>2</sub>O=464.38

### オウゴニン

バイカリン同様、オウゴンの確認試験用指標成分として用いられます。

起 源：Scutellaria baicalensis Georgi (Labiateae)

CAS No.：632-85-9



C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>=284.26

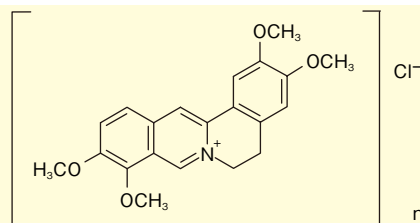
### 塩化パルマチン

第15局方試験において、オウバクの定量時のカラムの選定用に使用されます。同試験では塩化ベルベリンと塩化パルマチンをそれぞれ1mg、メタノールに溶解して使用します。

起 源：Phellodendron amurense Ruprecht,

Phellodendron chinense Schneider (Rutaceae)

CAS No.：10605-02-4



C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>·nH<sub>2</sub>O (C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>=387.86)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
024-15691	Baicalin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	20mg	12,000
236-02321	Wogonin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	10mg	16,000
165-22481	Palmatine Chloride	局方生薬試験用 (一般試験法用)	20mg	25,000

## RoHS 対応用試薬



平成18年7月より、欧州連合（EU）において、「RoHS指令」が施行されました。「RoHS指令」とは、あらゆる電子機器を対象に、特定有害物質の使用を制限するものです。制限対象となる特定有害物質は、鉛（Pb）、水銀（Hg）、カドミウム（Cd）、六価クロム（Cr<sup>6+</sup>）、ポリブロモビフェニル（PBB）、ポリプロモジフェニルエーテル（PBDE）の6物質です。

当社では、特級試薬57品目、容量分析用試薬4品目に、それぞれRoHS指令の規制対象である6物質の規格項目を追加した、「RoHS対応用試薬」61品目を発売しておりますので、ご活用下さい。

### 特長

- 特級・容量分析用の規格に、RoHS指令の規制対象となる6物質を追加

### 規格例

カドミウム（Cd）…………… 10ppm以下  
 水銀（Hg）…………… 10ppm以下  
 鉛（Pb）…………… 100ppm以下  
 クロム（Cr）…………… 10ppm以下  
 臭素系難燃剤（PBB、PBDE）…………… 1ppm以下

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-20805	Acetic Acid	RoHS対応	500mℓ	1,020
012-20807			20kg	照会
013-20795	Acetone	RoHS対応	500mℓ	900
019-20797			14kg	照会
013-20815	28% Ammonia Solution	RoHS対応	500mℓ	850
010-20825	25% Ammonia Solution	RoHS対応	500mℓ	850
016-20827			18ℓ	照会
014-20845	Ammonium Acetate	RoHS対応	500g	1,650
017-20835	Ammonium Sulfate	RoHS対応	500g	1,050
013-20837			20kg	照会
021-15645	Boric Acid	RoHS対応	500g	1,150
027-15647			20kg	照会
020-15615	1-Butanol	RoHS対応	500mℓ	1,130
026-15617			14kg	照会
024-15635	2-Butanone	RoHS対応	500mℓ	1,050
020-15637			14kg	照会
027-15625	2-(2-Butoxyethoxy) ethanol	RoHS対応	500mℓ	1,900
023-15627			15kg	照会
038-20085	Chloroform	RoHS対応	500mℓ	1,350
034-20087			25kg	照会
031-20075	Citric Acid Monohydrate	RoHS対応	500g	1,750
037-20077			20kg	照会
034-20065	Copper(II) Sulfate Pentahydrate	RoHS対応	500g	1,700
030-20067			15kg	照会
045-29935	Diammonium Hydrogen Citrate	RoHS対応	500g	2,200
048-29925	Dichloromethane	RoHS対応	500mℓ	1,250
044-29927			20kg	照会
041-29915	N, N-Dimethylformamide	RoHS対応	500mℓ	1,700
047-29917			15kg	照会
042-29945	Dimethyl Sulfoxide	RoHS対応	500mℓ	1,850
048-29947			18kg	照会
046-29965	Disodium Hydrogenphosphate	RoHS対応	500g	1,900
055-07515	Ethanol(99.5)	RoHS対応	500mℓ	2,000
051-07517			18ℓ	照会

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
052-07525	Ethanol(95)	RoHS対応	500mℓ	2,000
058-07527			18ℓ	照会
058-07505	Ethyl Acetate	RoHS対応	500mℓ	1,170
054-07507			15kg	照会
059-07535	Ethylene Glycol	RoHS対応	500mℓ	1,400
055-07537			18kg	照会
064-04845	Formaldehyde Solution	RoHS対応	500mℓ	900
060-04847			18kg	照会
073-05215	Glycerol	RoHS対応	500mℓ	1,700
079-05217			20kg	照会
070-05225	Glycine	RoHS対応	500g	2,400
076-05227			10kg	照会
082-08405	Hexane	RoHS対応	500mℓ	980
088-08407			12kg	照会
089-08415	Hydrochloric Acid	RoHS対応	500mℓ	850
085-08417			23kg	照会
086-08425	1mol/ℓ Hydrochloric Acid	RoHS対応	500mℓ	1,000
083-08435	0.1mol/ℓ Hydrochloric Acid	RoHS対応	500mℓ	950
080-08445	Hydrogen Peroxide	RoHS対応	500mℓ	1,100
086-08447			20kg	照会
099-05415	Iron(II) Sulfate Heptahydrate	RoHS対応	500g	1,250
095-05417			20kg	照会
133-15235	Methanol	RoHS対応	500mℓ	770
139-15237			14kg	照会
141-08365	Nickel(II) Chloride Hexahydrate	RoHS対応	500g	3,400
148-08375	Nickel(II) Sulfate Hexahydrate	RoHS対応	500g	2,900
144-08355	Nitric Acid (1.38)	RoHS対応	500mℓ	1,000
140-08357			25kg	照会
159-02625	Oxalic Acid Dihydrate	RoHS対応	500g	2,000
169-22565	Petroleum Ether	RoHS対応	500mℓ	1,100
165-22567			18ℓ	照会
161-22525	Phenol	RoHS対応	500g	1,750
167-22505	Phosphoric Acid	RoHS対応	500mℓ	1,300
163-22507			25kg	照会
168-22535	Potassium Chloride	RoHS対応	500g	1,000
164-22537			20kg	照会
162-22555	Potassium Dihydrogenphosphate	RoHS対応	500g	1,500
164-22515	Potassium Hydroxide	RoHS対応	500g	1,160
160-22517			20kg	照会
165-22545	Potassium Iodide	RoHS対応	500g	4,800
164-22495	2-Propanol	RoHS対応	500mℓ	900
160-22497			14kg	照会
166-22575	Pyridine	RoHS対応	500mℓ	2,800
162-22577			17kg	照会
198-14365	Sodium Carbonate	RoHS対応	500g	2,000
194-14367			20kg	照会
195-14375	Sodium Chloride	RoHS対応	500g	950
191-14377			20kg	照会
199-14395	Sodium Dihydrogenphosphate Dihydrate	RoHS対応	500g	1,400
195-14397			20kg	照会
191-14355	Sodium Hydrogen Carbonate	RoHS対応	500g	1,300
197-14357			15kg	照会
199-14415	Sodium Hydroxide	RoHS対応	500g	1,050
195-14417			20kg	照会
196-14425	1mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	RoHS対応	500mℓ	1,000
193-14435	0.5mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	RoHS対応	500mℓ	1,000
192-14385	Sodium Sulfite	RoHS対応	500g	980
198-14387			20kg	照会
192-14405	Sulfuric Acid	RoHS対応	500mℓ	980
198-14407			30kg	照会
205-16585	Tetrahydrofuran, no Stabilizer	RoHS対応	500mℓ	1,700
201-16587			15kg	照会
205-16605	Tetrahydrofuran, with Stabilizer	RoHS対応	500mℓ	1,750
201-16607			15kg	照会
202-16595	Toluene	RoHS対応	500mℓ	860
208-16597			15kg	照会
206-16635	p-Toluenesulfonic Acid Monohydrate	RoHS対応	500g	3,200
202-16615	Triethylamine	RoHS対応	500mℓ	1,950
208-16617			14kg	照会
209-16625	Trisodium Citrate Dihydrate	RoHS対応	500g	2,100
205-16627			10kg	照会
245-00815	Xylene	RoHS対応	500mℓ	1,020
241-00817			15kg	照会



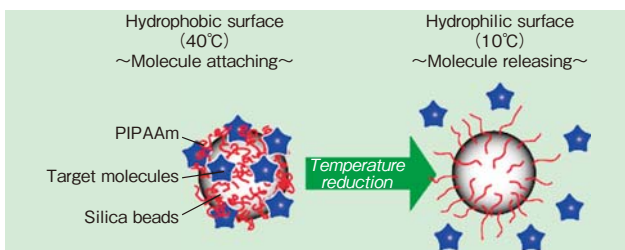
## 温度応答性HPLCカラム アクア・ウェイ (Aqua Way) シリーズ

アクア・ウェイ (Aqua Way) シリーズは、100%完全水系移動相を用いて分離を可能とした他に例を見ない画期的な次世代型HPLC用カラムです。分離条件の変更・設定は温度制御により行います。試料の変化を最小限に抑えることができ、環境にもやさしい新しい分離精製法です。

シリーズには逆相系カラム「Aqua Way Philic」と陰イオン性物質の分離に最適な「Aqua Way Cation」の2種類をご用意しております。「Aqua Way Philic」はステロイド系化合物、CYP Probe化合物、抗てんかん薬などの医薬品、ペプチドやタンパク質に、「Aqua Way Cation」はヌクレオチドなどの陰イオン性化合物に最適です。

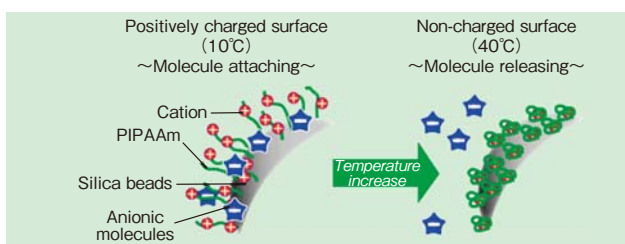
### 温度応答性逆相系 HPLC カラム アクア・ウェイ フィリック

- 1) 温度応答性ポリマー (PIPAAm) をアミノシリカビーズ (5  $\mu\text{m}$ 、120  $\text{\AA}$ ) に固定化
- 2) ポリマーが固定化されたビーズ表面は高温時には疎水性、低温時には親水性を示す
- 3) 分離選択性と保持時間は、カラム温度を制御することにより調節。カラム温度が低いほど低保持



### 温度応答性イオン系 HPLC カラム アクア・ウェイ カチオン

- 1) 温度応答性ポリマー (PIPAAm) に導入された塩基性官能基をシリカビーズ (5  $\mu\text{m}$ 、120  $\text{\AA}$ ) に固定化
- 2) ポリマーが固定化されたシリカビーズの表面は低温では陽性、温度が上昇するにつれ中性表面へ変化
- 3) 分離選択性と保持時間はカラム温度を制御することで最適化。カラム温度が高いほど低保持

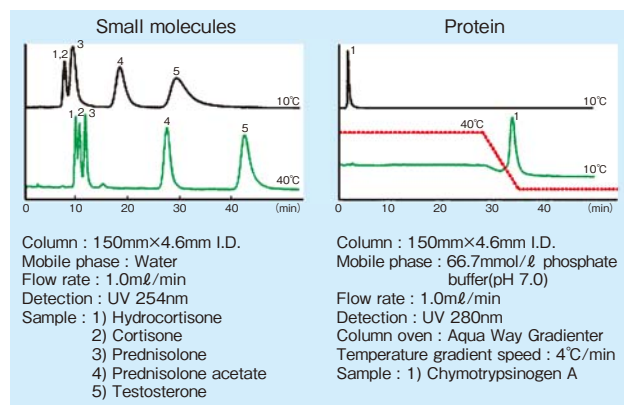


## Aqua Way 専用温調器 アクア・ウェイ・グラジエーター

- 1) アクア・ウェイカラムの性能を100%引き出すカラム温度制御装置
- 2) 世界最小・低騒音ヘリカルコンプレッサーを内蔵
- 3) 室温以下の温度設定 (0  $^{\circ}\text{C}$  ~ 50  $^{\circ}\text{C}$ ) が可能



方式	アルミブロック方式
温度設定範囲	0 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ /0.1 $^{\circ}\text{C}$ ステップ
制御精度/制御性能	$\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ /1分当たり1~6 $^{\circ}\text{C}$
精密温調機能	冷却出力の可変機能
寸法/重量	W17cm×L45cm×D27cm/17Kg
電源	AC 100V、50/60Hz
最大瞬間消費電力	700W



詳しくは、下記ホームページをご覧ください。

<http://wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromato/article/AquaWay.htm>

コード No.	メーカーコード	品名	カラムサイズ	容量	希望納入価格(円)
638-10811	AWA046050	Aqua Way Philic	4.6×50mm	1本	39,000
639-10721	AWA046150		4.6×150mm	1本	59,000
636-10731	AWA046250		4.6×250mm	1本	79,000
633-10741	AWC046050	Aqua Way Cation	4.6×50mm	1本	39,000
630-10751	AWC046150		4.6×150mm	1本	59,000
637-10761	AWC046250		4.6×250mm	1本	79,000
634-10771	AWT001	Aqua Way Trial Set*	4.6×50mm	1本	69,000
631-10801	AWG001	Aqua Way Gradienter	—	1台	850,000 +出張設置

\* 4.6×50mmのアクア・ウェイ フィリックとアクア・ウェイ カチオンがそれぞれ1本同梱。

## ポリアクリルアミドプレキャストゲル Wako スーパーセップ™

スーパーセップ™はタンパク質や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SDSを含んでいませんので、ランニングバッファを変えてすることでSDS-PAGE、Native-PAGEに使用できます。また、低分子領域の分離が優れているHG (High Grade) タイプも取り揃えております。

### 特長




- 保存安定性が優れている  
(使用期限は品目により製造日から6~9ヶ月)
- 再現性が優れている
- ウェル容積が大きく、サンプルのアプライ量が多い  
(12ウェル: 35  $\mu$ l, 17ウェル: 25  $\mu$ l)
- ウェスタンブロッティングにおいて、タンパク質のPVDF膜への転写効率が優れている
- HGタイプは、新製法により低分子領域の高分離を実現
- 価格が安く、ランニングコストを抑えられる



プレートサイズ: 100(H) × 100(W) × 3(T) (mm)

### セレクションチャート

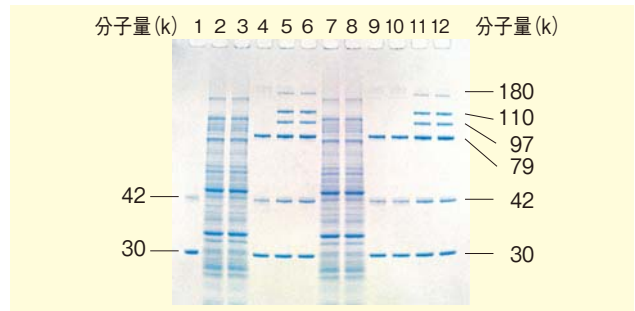
目的タンパク質の分子量に応じて、スーパーセップ™の濃度を選択して下さい。

品名	目的タンパク質の分子量(k)											使用期限*	
	4	6	8	10	25	50	75	100	150	200	250		
<b>SuperSep™</b>													
7.5% (濃縮ゲル: 5%)													6ヶ月
10% (濃縮ゲル: 5%)													6ヶ月
12.5% (濃縮ゲル: 5%)													9ヶ月
15% (濃縮ゲル: 5%)													6ヶ月
3-10% 													6ヶ月
5-20%													9ヶ月
10-20%													9ヶ月
<b>SuperSep™ HG</b>													
5-20%													6ヶ月
10-20%													6ヶ月
<b>SuperSep™ (Tricine Gel)</b>													
15-20% 													6ヶ月
<b>SuperSep™ 2D</b>													
12.5%													9ヶ月
5-20%													9ヶ月
10-20% 													9ヶ月

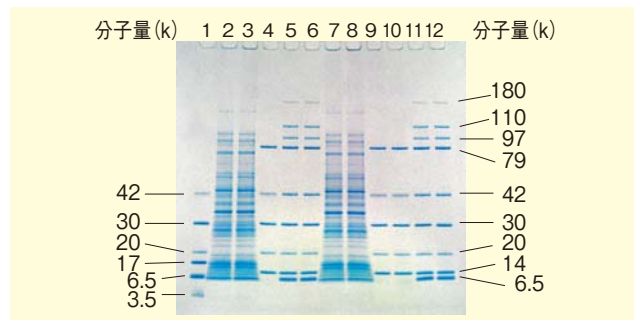
\*使用期限は製造日からの期限です。

### 泳動例

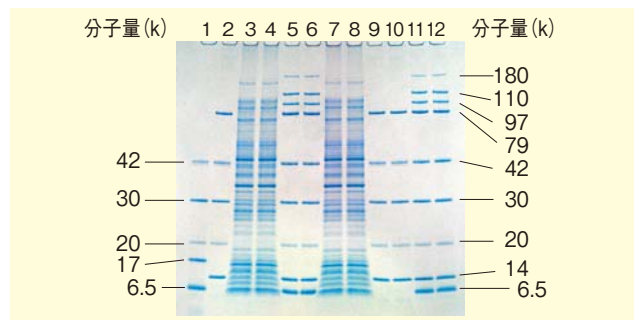
#### 10% [コードNo. 190-12941]



#### HG 5-20% [コードNo. 195-13611]



#### HG 10-20% [コードNo. 199-13631]



### 【泳動条件】

サンプルバッファ: Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME+) [コードNo. 196-11022]

泳動バッファ: Running Buffer Soln. (×10) [コードNo. 184-01291]

電流: 20mA/定電流 (約90分)

染色: Quick-CBB PLUS [コードNo. 174-00553]

サンプル

Lane 1: Molecular Weight Marker, Low Range [コードNo. 294-63101]

Lane 2, 3, 8, 9: 大腸菌由来タンパク質

Lane 4, 10, 11: Molecular Weight Marker, Middle Range [コードNo. 131-14511]

### 保存条件

2~10℃・遮光保存 (凍結不可)

[次頁に続く]

コード No.	品名	ウェル	規格	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSep™ 7.5%	12	電気泳動用	10枚	12,000
199-12911		17	電気泳動用	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%	12	電気泳動用	10枚	12,000
193-12931		17	電気泳動用	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%	12	電気泳動用	10枚	12,000
197-12951		17	電気泳動用	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™ 15%	12	電気泳動用	10枚	18,000
191-13071		17	電気泳動用	10枚	18,000
NEW 199-14611	SuperSep™ 3-10%	12	電気泳動用	10枚	18,000
NEW 196-14621		17	電気泳動用	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%	12	電気泳動用	10枚	12,000
191-12971		17	電気泳動用	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%	12	電気泳動用	10枚	12,000
195-12991		17	電気泳動用	10枚	12,000
195-13611	SuperSep™ HG, 5-20%	12	電気泳動用	10枚	15,000
192-13621		17	電気泳動用	10枚	15,000
199-13631	SuperSep™ HG, 10-20%	12	電気泳動用	10枚	15,000
196-13641		17	電気泳動用	10枚	15,000
NEW 195-14691	SuperSep™ 15-20% (Tricine Gel)	12	電気泳動用	10枚	18,000
NEW 198-14701		17	電気泳動用	10枚	18,000
190-13301	SuperSep™ 12.5%, 2D	2D	電気泳動用	10枚	18,000
197-13291	SuperSep™ 5-20%, 2D	2D	電気泳動用	10枚	18,000
NEW 192-14721	SuperSep™ 10-20%, 2D	2D	電気泳動用	10枚	18,000

※専用泳動槽「イージーセパレーター™」は p. 36 をご参照下さい。

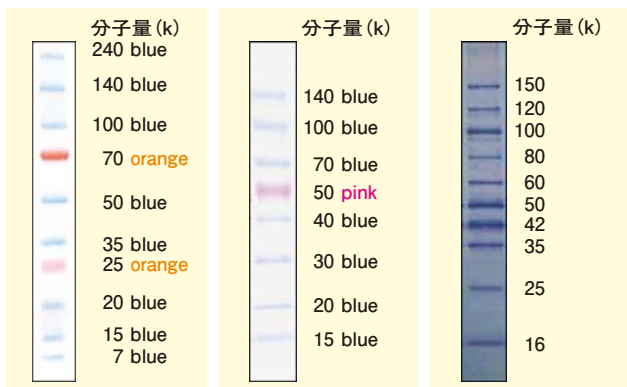
## タンパク質サイズマーカー

### プレスティンマーカー

本品は、あらかじめ色素と結合させたマーカーです (①~②)。バンドの移動度が正確で、ロット間差がなくスタンダードとして最適です。

### ウエスタン用マーカー

本品は、プロテインGの免疫グロブリンとの結合域を含むリコンビナントタンパク質で作られたマーカーです (③)。

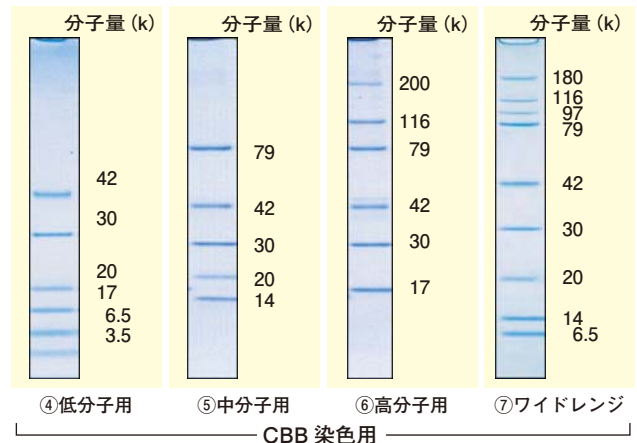


①プレスティンⅡ ②プレスティン ③ウエスタン

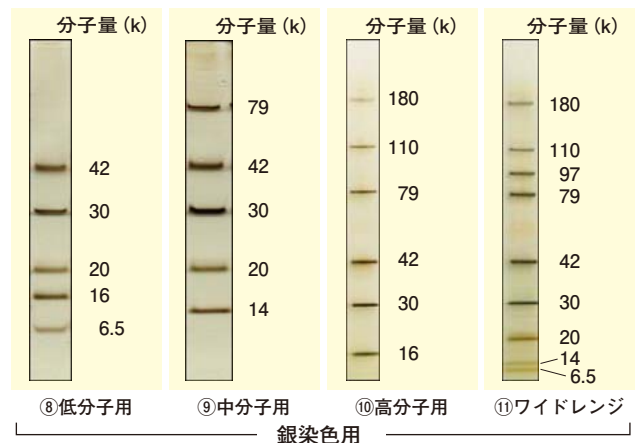
## CBB 染色用マーカー

### 銀染色用マーカー

本品は、それぞれCBB染色用 (④~⑦)、銀染色用 (⑧~⑪) に最適化された未着色マーカーです。含まれるマーカータンパク質は還元アルキル化処理を施しているため、シャープで均一なバンドが得られます。



④低分子用 ⑤中分子用 ⑥高分子用 ⑦ワイドレンジ  
CBB 染色用



⑧低分子用 ⑨中分子用 ⑩高分子用 ⑪ワイドレンジ  
銀染色用

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)	写真No.
239-02291	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker II	電気泳動用	500 μℓ (約 50-100 回用)	20,000	①
230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	電気泳動用	500 μℓ (約 30-100 回用)	18,000	②
233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	電気泳動用	250 μℓ (約 50-250 回用)	20,000	③
294-63101	Molecular Weight Marker, Low Range	電気泳動用	1 mL 用 (約 200 回用)	9,800	④
131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	電気泳動用	1 mL 用 (約 200 回用)	9,800	⑤
134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	電気泳動用	1 mL 用 (約 200 回用)	9,800	⑥
296-63301	Molecular Weight Marker, Wide Range	電気泳動用	1 mL 用 (約 200 回用)	9,800	⑦
196-14001	Silver Stain MW Marker, Low Range	電気泳動用	6 mL 用 (約 600 回用)	12,000	⑧
193-14011	Silver Stain MW Marker, Middle Range	電気泳動用	6 mL 用 (約 600 回用)	12,000	⑨
190-14021	Silver Stain MW Marker, High Range	電気泳動用	6 mL 用 (約 600 回用)	12,000	⑩
197-14031	Silver Stain MW Marker, Wide Range	電気泳動用	6 mL 用 (約 600 回用)	12,000	⑪

## 接着細胞の剥離、細胞分散用 トリプシンEDTA溶液

本品はろ過滅菌済みのトリプシンEDTA溶液です。接着細胞の剥離、各種組織の細胞分散などにご利用下さい。



### 品質試験

マイコプラズマ試験、ウイルス試験<sup>\*</sup>、無菌試験、実用試験 他

<sup>\*</sup>ブタパルボウイルス試験済みの原料を使用しています。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
202-16931	0.05w/v% Trypsin-0.53mmol/l EDTA・4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800
209-16941	0.25w/v% Trypsin-1mmol/l EDTA・4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
208-15931	Trypsin, Bovine, recombinant expressed in Corn	細胞生物学用	5mg	8,000
204-15933			50mg	48,000
206-09224			50mg	2,800
202-09221			100mg	4,200
202-09226			500mg	15,000
208-09223	Trypsin Inhibitor, from Soybean > 9,000 BAEE units/mg	生化学用	1g	24,000
204-09225			5g	100,000
014-21021			500μl	18,000
010-21023	Aprotinin, Bovine, recombinant expressed in Plants, Solution	細胞培養用	1,000μl	33,000
038-10531	Collagenase 起源: <i>Clostridium histolyticum</i> コラゲナーゼだけでなく種々の加水分解酵素を含む粗製品。相乗効果で細胞分散作用が強い	細胞分散用	100mg	3,700
034-10533			1g	22,000
032-10534			5g	78,000
031-17601	Collagenase Type I 起源: <i>Clostridium histolyticum</i>	細胞分散用	100mg	5,000
037-17603			500mg	16,000
035-17604			1g	26,500
038-17851	Collagenase Type V 起源: <i>Clostridium histolyticum</i> トリプシン活性を抑えているため、臓腑からの細胞分散に優れる	細胞分散用	100mg	4,500
034-17853			500mg	15,800
032-17854			1g	28,600
035-17861	Collagenase Type X 起源: <i>Clostridium histolyticum</i> プロテアーゼ活性が高く、骨、心臓、胸腺、唾液腺などの硬組織の細胞分散に優れる	細胞分散用	100mg	5,000
031-17863			500mg	18,000
039-17864			1g	32,000

## 細胞培養用 液体培地 平衡塩溶液

液体培地は、D-MEM、E-MEM、RPMI-1640など汎用されている商品群を品揃えしています。ろ過滅菌済みですので、培養温度(37℃付近)に温めてそのままご利用下さい。

平衡塩溶液はCa<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>不含です。細胞内外の浸透圧平衡を維持しながら細胞の洗浄や希釈を行う際にご利用下さい。



液体培地(エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験、無菌試験、細胞増殖能試験 適合品)

コードNo.	品名	レグルタミン	フェノールレッド	ピルピル酸	HEPES	規格	容量	希望納入価格(円)
044-29765	D-MEM (High Glucose)	●	●			細胞培養用	500ml	1,200
043-30085		●	●	●		細胞培養用	500ml	1,200
048-30275		●	●		●	細胞培養用	500ml	1,800
045-30285			●			細胞培養用	500ml	1,200
040-30095						細胞培養用	500ml	1,200
041-29775	D-MEM (Low Glucose)	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,200
051-07615	E-MEM	●	●			細胞培養用	500ml	1,200
135-15175	MEM α	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,200
189-02025	RPMI-1640	●	●			細胞培養用	500ml	1,200
189-02145		●	●		●	細胞培養用	500ml	1,500
186-02155		●				細胞培養用	500ml	1,200
183-02165			●			細胞培養用	500ml	1,200
087-08335	Ham's F-12	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,200
080-08565	Ham's F-12K (Kaighn's Modification)	●	●	●		細胞培養用	500ml	3,800
048-29785	D-MEM/Ham's F-12	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,200

平衡塩溶液(エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験、無菌試験 適合品)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
084-08345	HBSS (-) with Phenol Red	細胞培養用	500ml	1,200
045-29795	D-PBS (-)	細胞培養用	500ml	1,200
048-29805	10 × D-PBS (-)	細胞培養用	500ml	2,300



## 動物由来成分不含有



### 植物発現組換えタンパク質

再生医療用の組織培養、動物培養細胞を用いたワクチンや抗体医薬の製造などにおいて、動物由来成分不含有の培地が注目されています。

当社では、これらのニーズに対応するため、植物発現組換えタンパク質として、ウシアプロチニン、ヒトラクトフェリン、ヒトリゾチーム、ウシトリプシンの、計4種類をラインアップしております。ヒト由来ウイルスや、BSE原因物質の混入の心配がありません。

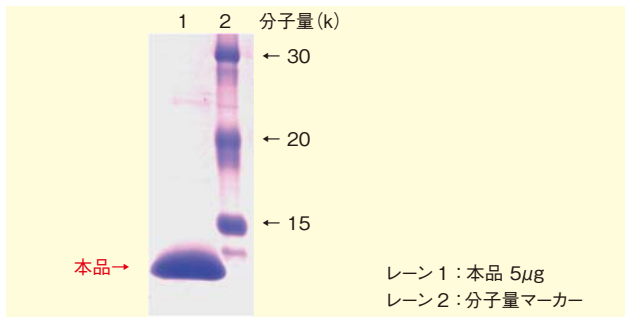
### アプロチニン, ウシ, 植物発現組換え体, 溶液

本品は、接着性の動物培養細胞のトリプシン処理後に添加し、トリプシンを不活性化するために使用します。

プロテアーゼ阻害活性: > 5 TIU/mg protein

1 TIU (Trypsin Inhibitor Unit) ≒ 900 KIU (Kallikrein Inhibitor Unit)

8 UIP (Peptidases Inhibitor Units) = 1 KIU (Kallikrein Inhibitor Unit)

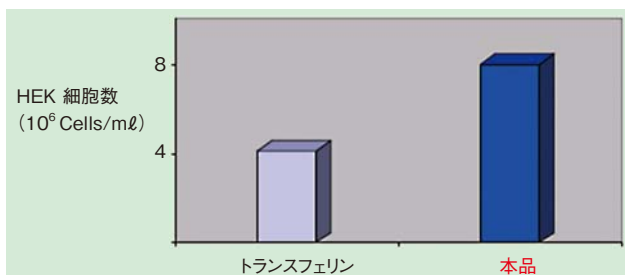


### ラクトフェリン, ヒト, 植物発現組換え体

本品は、一般的な細胞や増殖効率が低い細胞の培養、ハイブリドーマによるIgG<sub>1</sub>の生産に最適です。無血清最小培地を用いたハイブリドーマのIgG<sub>1</sub>生産量は、トランスフェリン添加時の約1.5倍です。

## データ

### トランスフェリンとの細胞増殖能比較



Human Embryonic Kidney (HEK) 細胞の培養では、トランスフェリンよりも細胞数が約2倍であった。

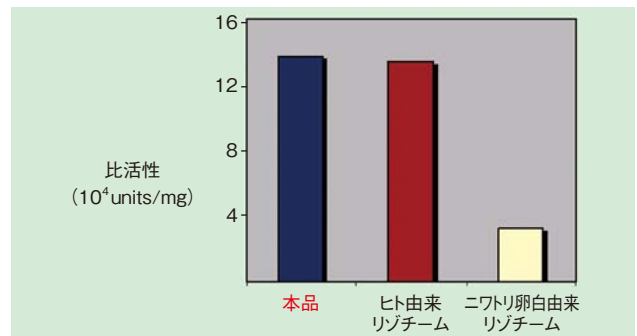
### リゾチーム, ヒト, 植物発現組換え体

本品は、ニワトリ卵白由来リゾチームと比較して、グラム陽性菌、陰性菌に対して4倍以上の溶菌活性を示します。溶菌活性はヒト由来リゾチームと同等で、動物細胞を用いた組換えタンパク質生産時に細菌のコンタミネーション抑制に最適です。

単位の定義: *Micrococcus* 属細菌の懸濁液を基質として、450nmにおける吸光度を0.001変化させる酵素量を1 unitとする。

## データ

### *Micrococcus luteus* への溶菌活性



*Micrococcus luteus*に対するニワトリ卵白由来リゾチームとヒト由来リゾチームとの溶菌活性比較。ヒト由来リゾチームと同等の活性を示した。

### トリプシン, ウシ, とうもろこし発現組換え体

本品は、接着性の動物培養細胞のトリプシン処理に使用します。

活性: 72 TAME units/mg 以上 (3,300 USP units/mg 以上)

単位の定義: pH 8.2、25°C、0.01 mol/l カルシウムイオンの存在下において1分間に1 μmolのN<sub>α</sub>-p-トシル-L-アルギニンメチルエステル (TAME) を加水分解する酵素量を1 TAME unitとする。

1 TAME unit = 19.2 USP unit = 57.5 BAEE unit

コード No.	品名	規格	容量	希釈納入価格(円)
014-21021	Aprotinin, Bovine, recombinant expressed in Plants, Solution	細胞培養用	500 μl	18,000
010-21023			1,000 μl	33,000
188-02051			50mg	9,200
184-02053	Lactoferrin, Human, recombinant expressed in Plants	細胞培養用	100mg	14,000
182-02054			500mg	60,700
185-02061			10mg	2,000
181-02063	Lysozyme, Human, recombinant expressed in Plants	細胞培養用	100mg	5,000
189-02064			500mg	16,000
208-15931	Trypsin, Bovine, recombinant expressed in Corn	細胞生物学用	5mg	8,000
204-15933			50mg	48,000

## 生体防御機能研究に！



### LPS (リポポリサッカリド)

LPSは、グラム陰性菌の細胞壁の最外層を構成している成分です。本品には、菌体より粗LPSをフェノール-水抽出法（Westphal法）にて抽出した製品（フェノール抽出品）と、さらに超遠心法で精製し2回洗浄した製品（超遠心品）の2種類があります。各種炎症反応の誘発実験などにご使用下さい。

プロテウス菌3株はリケッチア感染症（発疹症、発疹チフス、ツツガ虫病）の血清診断（Weil-Felix反応）に用いられています。リケッチアとプロテウス菌のLPSにあるO抗原に共通構造があることが明らかにされています。

### 規 格

形状：凍結乾燥品

コードNo.	品 名	菌株	精製	規格	容量	希望納入価格(円)
<i>Escherichia coli</i>						
120-05131	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26 (by phenol extraction)	O26	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
127-05141	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55 (by phenol extraction)	O55	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
125-05201	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111 (by phenol extraction)	O111	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
124-05151	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127 (by phenol extraction)	O127	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	10,000
121-05161	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26 (by ultracentrifugation)	O26	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
128-05171	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55 (by ultracentrifugation)	O55	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
NEW 126-05471	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O103 (by ultracentrifugation)	O103	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
125-05181	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111 (by ultracentrifugation)	O111	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
122-05191	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127 (by ultracentrifugation)	O127	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
NEW 129-05461	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O157 (by ultracentrifugation)	O157	超遠心	細胞生物学用	5mg	12,000
<i>Proteus vulgaris</i>						
124-05271	Lipopolysaccharide, from <i>Proteus vulgaris</i> OX2 (by phenol extraction)	OX2	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	15,000
121-05281	Lipopolysaccharide, from <i>Proteus vulgaris</i> OX19 (by phenol extraction)	OX19	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	15,000
128-05291	Lipopolysaccharide, from <i>Proteus mirabilis</i> OXK (by phenol extraction)	OXK	フェノール抽出	細胞生物学用	25mg	15,000

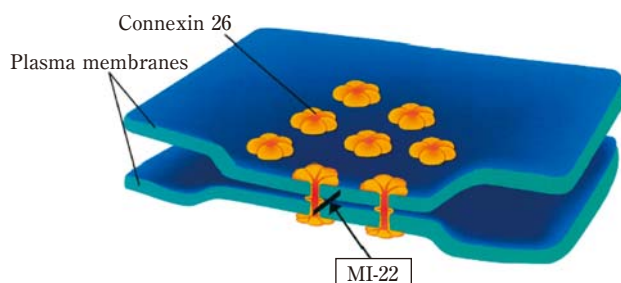
## がん転移抑制剤



### MI-22

近年の研究により、がん細胞株でギャップ結合を構成するタンパク質であるコネキシン26の発現増大が確認されており、がん細胞の転移機構の一つとしてコネキシン26の関与が示唆されています。

オレアミドの誘導体であるMI-22 (metastasis inhibitor-22) は、がん細胞がコネキシン26を介して他の細胞とギャップ結合を形成するのを抑制するだけでなく、*in vivo*における自然転移も抑制することが分かっています。

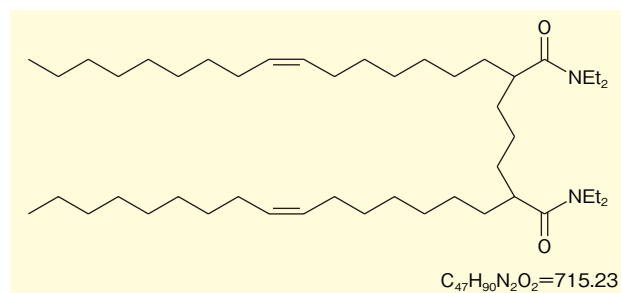


### 特 長

- コネキシン26を特異的に阻害する
- ギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションを阻害する
- *in vivo*における自然転移も抑制する

化学名：N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>,N<sup>7</sup>,N<sup>7</sup>-Tetraethyl-2,6-di[(Z)-7-hexadecenyl]-heptanediamide

外 観：黄色油状物



### 【参考文献】

- 1) Ito, A. et al. : *J. Clin. Invest.*, **105**, 1189(2000).
- 2) Ito, A. et al. : *Carcinogenesis*, **25**, 2015(2004).
- 3) Ohba, Y. et al. : *Int. J. Cancer*, **121**, 2801(2007).

コードNo.	品 名	規 格	容量	希望納入価格(円)
132-15043	MI-22	細胞生物学用	5mg	5,000
136-15041			200mg	50,000

## 神経系シグナル伝達研究に！

### グルタミン酸レセプター作用物質

当社でラインナップしている神経系レセプター作用物質に、新しく2品目が追加になりました。

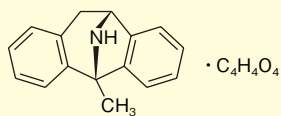
### (+)-MK 801 マレイン酸塩 【Dizocilpine Maleate】

NMDA型グルタミン酸受容体に選択性を示す非競合的アンタゴニストです。リガンドが結合して開いたイオンチャンネル部のポア領域に結合するオープンチャンネル阻害剤です。

#### 規格

含量：98.0%以上

比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ ( $c=0.1, C_2H_5OH$ )：+114～+118℃



$C_{16}H_{15}N \cdot C_4H_4O_4 = 337.37$

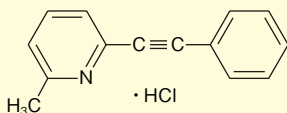
CAS No. : 77086-22-7

### MPEP 塩酸塩 【2-Methyl-6-(Phenylethynyl)pyridine Hydrochloride】

代謝型グルタミン酸受容体5型 (mGluR5) に選択性を示す強力な非競合的アンタゴニストです。

#### 規格

含量：98.0%以上



$C_{14}H_{11}N \cdot HCl = 229.70$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
134-15461	(+)-MK801 Maleate	細胞生物学用	10mg	12,500
130-15463	【Dizocilpine Maleate】		50mg	49,000
131-15471	MPEP Hydrochloride 【2-Methyl-6-(Phenylethynyl)pyridine Hydrochloride】	細胞生物学用	10mg	24,000

## 認知症などの研究に

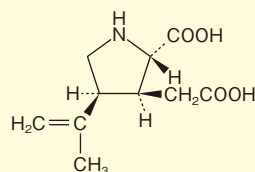
### カイニン酸n水和物

回虫駆除剤として知られる紅藻のマクリ (海人草, *Digenea simplex*) から抽出、単離されたグルタミン酸骨格を持つアミノ酸です。

本品は、カイニン酸型グルタミン酸受容体の選択的アゴニストの一つで、中枢神経を著しく興奮させる薬理作用があります。カイニン酸カスケードを経由するシグナル伝達系、神経細胞のアポトーシス、ALS (筋萎縮性側索硬化症)、アルツハイマー病の病態メカニズムの研究などに利用されます。

水溶状：澄明

含量(HPLC)：98.0%以上



$C_{10}H_{15}NO_4 \cdot nH_2O$  ( $C_{10}H_{15}NO_4 = 213.23$ )

#### 保存条件

2～10℃・遮光保存

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
118-00751	Kainic Acid n-Hydrate	生化学用	10mg	15,000

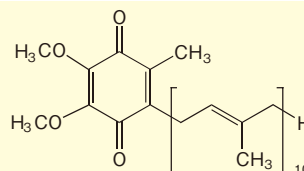
## お求め易くなりました

### ユビキノン-10 【Coenzyme Q10】

生体の細胞内に存在する補酵素です。生体のエネルギー産生に重要な役割を果たし、最近では抗酸化作用も注目されています。

外観：黄色～だいたい色、粉末または塊

含量(HPLC)：98.0%以上



$C_{59}H_{90}O_4 = 863.34$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
211-01311	Ubiquinone-10	和光特級	5g	8,000
219-01312			25g	29,000

## 新規阻害剤

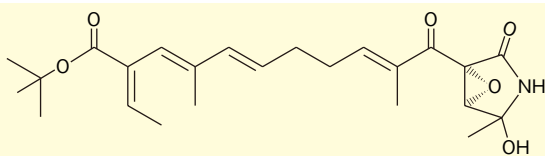
Wako

理化学研究所 抗生物質研究室 長田裕之博士が発見した新規の阻害剤を理化学研究所から販売ライセンスを受け製品化しました。

### HSP60 阻害剤

#### ETB

本品は*Penicillium* 属から単離されたエポラクタエンの誘導体です。ヒト神経芽腫細胞SH-SY 5Yに対してエポラクタエンより強力な細胞増殖抑制効果があり、アポトーシスを誘導します。また、ヒトTリンパ腫細胞Jurkatに対してアポトーシスを誘導することが明らかにされています。近年では、ETBの結合タンパク質の一つとしてHSP 60が同定されました。HSP 60に結合し、シャペロン活性を阻害します。



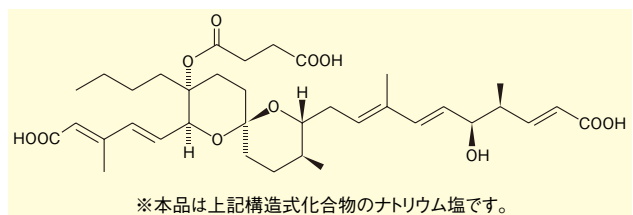
#### 【参考文献】

1) Nagumo, Y., Kakeya, H., Shoji, M., Hayashi, Y., Dohmae, N. and Osada, H. : *Biochem. J.*, **387**(3), 835(2005).

### タンパク質合成阻害剤

#### リベロマイシンAナトリウム

本品は*Streptomyces* 属から単離された抗生物質です。イソロイシルtRNA合成酵素をターゲットとし、真核細胞のタンパク質合成を阻害します。抗腫瘍活性や抗真菌性が認められて研究が進められていましたが、近年では低濃度投与により、酸性環境を作り出す活性化破骨細胞に細胞死を誘導することがわかり、骨粗鬆症・多発性骨髄腫の治療薬候補として注目を浴びています。



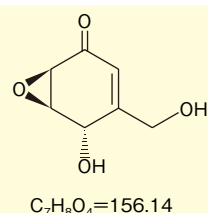
#### 【参考文献】

1) Woo, J. T., Kawatani, M., Kato, M., Shinki, T., Yonezawa, T., Kanoh, N., Nakagawa, H., Takami, M., Lee, K. H., Stern, P. H., Nagai, K. and Osada, H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**(12), 4729(2006).

### アポトーシス阻害剤

#### RKTS-33

本品は*Paecilomyces* 属から単離されたエポキシシクロヘキセノンの誘導体です。エポキシシクロヘキセノンよりも低毒性であり、エポキシシクロヘキセノンと同様に、細胞傷害性T細胞によるパーフォリン依存性経路を阻害せず、Fasリガンド依存性経路のみを選択的に阻害することによりアポトーシスを阻害します。



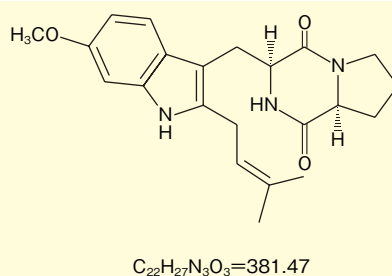
#### 【参考文献】

1) Mitsui, T., Miyake, Y., Kakeya, H., Hayashi, Y., Osada, H. and Kataoka, T. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(10), 1923(2005).

### 細胞周期阻害剤

#### トリプロスタチンA

本品は*Aspergillus* 属から単離されたアルカロイド系抗生物質です。微小管結合タンパク質結合部位に作用し、細胞周期をM期特異的に停止させることにより抗腫瘍活性を示します。



#### 【参考文献】

1) Usui, T., Kondoh, M., Cui, C. B., Mayumi, T. and Osada, H. : *Biochem. J.*, **333**(3), 543(1998).

近日発売

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 051-07671	ETB	細胞生物学用	200 $\mu$ g	38,000
NEW 185-02181	Reveromycin Sodium Salt	細胞生物学用	500 $\mu$ g	30,000
NEW 182-02191	RKTS-33	細胞生物学用	200 $\mu$ g	38,000
NEW 203-16961	Tryprostatin A	細胞生物学用	500 $\mu$ g	30,000



## マイコトキシン試験用



### カビ毒溶液

マイコトキシンはカビの二次代謝産物として産生され、ヒトや動物などに対して毒性を有する物質の総称です。この度、食品など検体中のマイコトキシンの検査に用いることができるカビ毒の溶液タイプを各種揃えました。

溶解の手間を省き、簡便にマイコトキシン試験を行うことができます。

形状：アセトニトリル溶液

(\* フモニシン類のみアセトニトリル：水(1：1))

コードNo.	品名	濃度 (μg/ml)	規格	容量	希望納入価格(円)
019-21071	3-Acetyl-deoxynivalenol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
016-21081	15-Acetyl-deoxynivalenol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
013-21091	Aflatoxin B <sub>1</sub> Solution	2	マイコトキシン試験用	5ml	45,000
016-21101	Aflatoxin B <sub>2</sub> Solution	0.5	マイコトキシン試験用	5ml	45,000
013-21111	Aflatoxin G <sub>1</sub> Solution	2	マイコトキシン試験用	5ml	45,000
010-21121	Aflatoxin G <sub>2</sub> Solution	0.5	マイコトキシン試験用	5ml	45,000
017-21131	Aflatoxin M <sub>1</sub> Solution	0.5	マイコトキシン試験用	5ml	52,000
046-30151	Deoxy-deoxynivalenol Solution	50	マイコトキシン試験用	5ml	65,000
043-30161	Deoxynivalenol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
040-30171	Diacetoxyscirpenol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	65,000
060-04901	Fumonisin B <sub>1</sub> Solution*	50	マイコトキシン試験用	5ml	57,000
067-04911	Fumonisin B <sub>2</sub> Solution*	50	マイコトキシン試験用	5ml	64,000
068-04941	Fusarenon X Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	60,000
144-08431	Neosolaniol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	64,000
147-08421	Nivalenol Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
159-02701	Ochratoxin A Solution	10	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
166-22771	Patulin Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	75,000
083-08491	HT-2 Toxin Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	75,000
205-16801	T-2 Toxin Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	75,000
267-01911	Zearalenone Solution	100	マイコトキシン試験用	5ml	59,000
014-21141	Aflatoxins Mixture Solution 1 [Aflatoxin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , and G <sub>2</sub> ]	B <sub>1</sub> , G <sub>1</sub> ...2 B <sub>2</sub> , G <sub>2</sub> ...0.5	マイコトキシン試験用	5ml	52,000
011-21151	Aflatoxins Mixture Solution 2 [Aflatoxin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , and G <sub>2</sub> ]	各0.25	マイコトキシン試験用	6ml	80,000
065-04951	Fumonisin Mixture Solution* [Fumonisin B <sub>1</sub> and B <sub>2</sub> ]	各50	マイコトキシン試験用	5ml	75,000
202-16811	B-Trichothecenes Mixture Solution [Deoxynivalenol, Nivalenol, 3-Acetyl-deoxynivalenol, 15-Acetyl-deoxynivalenol]	各100	マイコトキシン試験用	5ml	90,000
209-16821	A, B-Trichothecenes, Zearalenone Mixture Solution [3-Acetyl-deoxynivalenol, Deoxynivalenol, Nivalenol, Fusarenon X, HT-2 toxin, T-2 toxin, Diacetoxyscirpenol and Zearalenone]	各10	マイコトキシン試験用	5ml	110,000

注目商品

※一部の品目については生物・毒素兵器の製造・使用防止の為、販売の際に「試験研究用に使用することを確認する証」を頂いております。

## 関連商品

### カビ毒粉末品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-17671	Aflatoxin B <sub>2</sub>	生化学用	10mg	41,000
010-17691	Aflatoxin G <sub>2</sub>	生化学用	10mg	58,000
018-18351	Aflatoxin M <sub>1</sub>	生化学用	100 μg	30,000
024-07761	Butenolide	マイコトキシン試験用	10mg	15,700
030-17171	Cyclopiiazonic Acid	生化学用	5mg	8,500
046-20401	Diacetoxyscirpenol	マイコトキシン試験用	10mg	16,000
048-18631	Deoxynivalenol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	24,000
141-04661	Neosolaniol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	20,000
144-04651	Nivalenol Standard	マイコトキシン試験用	10mg	21,000
150-02111	Ochratoxin A	生化学用	5mg	42,000
168-21631	Patulin	マイコトキシン試験用	10mg	30,000
209-08251	T-2 Toxin Standard	マイコトキシン試験用	10mg	15,500

## カロテノイド生合成の研究に！

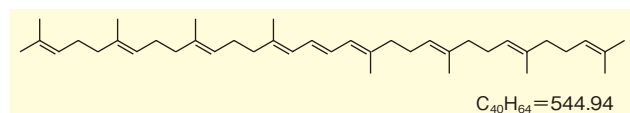


### (E/Z)-フィトエン

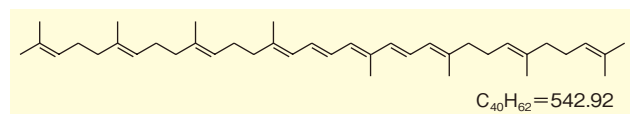
### (E/Z)-フィトフルエン

フィトエンは、植物や菌類において生体内で合成される最初のカロテノイドです。その後、フィトエン→フィトフルエン→ζ-カロテン→ノイロスポレン（ニューロスポレン）→リコペンと生合成経路をとることが知られています。また、近年、フィトエンによる、細胞の脂質過酸化抑制作用が示唆されています。

### ■ フィトエン



### ■ フィトフルエン



### 【参考文献】

- 1) 谷村顕雄 編：「天然色素ハンドブック」（光琳）。
- 2) 高市真一：「カロテノイドーその多様性と生体活性ー」（裳華房）。

コードNo.	メーカーコード	品名	純度 (HPLC)	抽出/合成	形状	容量	希望納入価格(円)
516-23971	0044	(E/Z)-Phytoene	約98%	抽出	oily	1mg	116,800
513-23981	0042	(E/Z)-Phytofluene	約95%	抽出	oily	1mg	116,800

## 関連商品

コードNo.	メーカーコード	品名	純度 (HPLC)	抽出/合成	形状	容量	希望納入価格(円)
512-28571	0038	ζ-Carotene	約98%	合成	crystal	1mg	99,700
-	0031	Lycopene	約95%	合成	crystal	1mg	56,000
519-23961	0034	Neurosporene	約95%	合成	crystal	1mg	99,700

## エピジェネティクス研究に



### DNA メチル化阻害剤

DNAのメチル化はエピジェネティックな遺伝子の発現制御に関与しています。DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)によってDNAのC(シトシン)塩基の5位炭素原子にメチル基が付加され、メチル化DNAが生成されます。

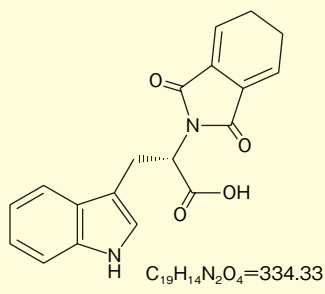
DNMTによるDNAメチル化には2種類存在し、DNMT1による維持型DNAメチル化(DNA複製後もメチル化状態が維持)と、DNMT3aとDNMT3bによる*de novo*型DNAメチル化(メチル化されていないDNAを新たにメチル化)があります。がん細胞・生殖細胞の種類や、細胞周期に依存して、メチル化DNA量が変化するため、DNAメチル化を効果的に阻害することにより、遺伝子発現を詳細に解析することができます。

### DNA メチルトランスフェラーゼ阻害剤

本品は、5-アザシチジンや5-アザ-2'-デオキシシチジンなどのDNAメチル化阻害剤とは異なり、DNAメチルトランスフェラーゼの酵素活性中心に結合することでその酵素活性を不活性化します。

含量(HPLC) : 97.0%以上

保存条件 : -20℃



#### 【参考文献】

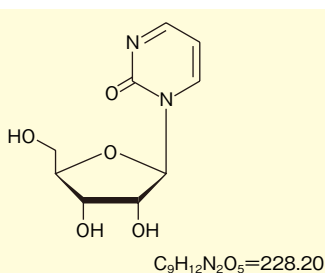
1) Brueckner, B. *et al.* : *Cancer Res.*, **65**, 6305 (2005).

### ゼブラリン

本品は、濃度依存的にゲノムDNAの脱メチル化を引き起こす、シチジン類縁体のDNAメチル化阻害剤の一つです<sup>1)</sup>。水溶液中での安定性が高く、低毒性であることが知られています<sup>2)</sup>。

含量(HPLC) : 97.0%以上

保存条件 : 4℃



#### 【参考文献】

1) Stresemann, C. *et al.* : *Cancer Res.*, **66**, 2794 (2006).

2) Cheng, J. C. *et al.* : *J. Natl. Cancer Inst.*, **95**, 399 (2003).

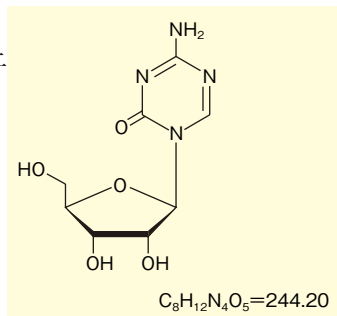
### 5-アザシチジン

本品は、濃度依存的にゲノムDNAの脱メチル化を引き起こす、DNAメチル化阻害剤の一つです<sup>1)</sup>。前立腺がん細胞におけるプロモーター部位メチル化研究<sup>2)</sup>などに使用されています。

含量(HPLC) : 98.0%以上

CAS No. : 320-67-2

保存条件 : -20℃



#### 【参考文献】

1) Stresemann, C. *et al.* : *Cancer Res.*, **66**, 2794 (2006).

2) Leiblich, A. *et al.* : *Oncogene.*, **25**, 2953 (2006).

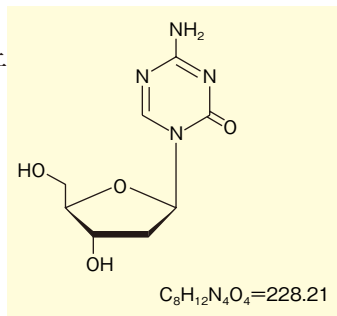
### 5-アザ-2'-デオキシシチジン

本品は、濃度依存的にゲノムDNAの脱メチル化を引き起こす、シチジン類縁体のDNAメチル化阻害剤の一つです<sup>1)</sup>。肺がん細胞におけるプロモーター部位メチル化研究<sup>2)</sup>などに使用されています。

含量(HPLC) : 97.0%以上

CAS No. : 2353-33-5

保存条件 : -20℃



#### 【参考文献】

1) Stresemann, C. *et al.* : *Cancer Res.*, **66**, 2794 (2006).

2) Vuilleminot, B. R. *et al.* : *Mol. Cancer Res.*, **4**, 267 (2006).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
041-30101	DNA Methyltransferase Inhibitor	遺伝子研究用	10mg	32,000
047-30103			25mg	76,000
267-01891	Zebularine	遺伝子研究用	5mg	14,000
263-01893			25mg	56,000
010-20641	5-Azacytidine	生化学用	100mg	4,800
016-20643			250mg	10,000
014-20644			1g	38,000
018-20941	5-Aza-2'-deoxycytidine	遺伝子研究用	10mg	16,000
014-20943			50mg	68,000

### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
059-05411	(-)-Epigallocatechin Gallate	生化学用	100mg	13,000
167-15111	Procaine Hydrochloride	生化学用	50g	5,500

## 柴田 雄次 (1882~1980)

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

日本の無機化学研究の基礎を固め、錯体化学、地球化学に新しい道を開いたわが国化学の先達柴田雄次は明治15年(1882)1月28日に柴田承桂の次男として東京に生まれた。父承桂は名古屋藩藩医の家の出身で、わが国の近代薬学の最初の開拓者であった。長兄は植物化学者として有名になる柴田桂太であった。そのような一家の環境の中で育った柴田雄次は第一高等学校を卒業後、明治37年(1904)に東京帝国大学理科大学すなわち現在の東大理学部化学科に入学した。

卒業研究は松原行一教授の有機化学講座に所属して、テトラメチレン-1,2,3,4-テトラカルボン酸の合成とその立体異性体の課題を与えられた。卒業後はさらにフタル酸エステルなどに対するグリニヤ試薬の反応の研究を続け、生涯を有機化学研究にささげる熱意に燃えていた。

明治43年(1910)になって桜井錠二教授に呼ばれて、当時病氣療養中の無機化学担当の堺和(はが)為昌の後任候補として無機化学研究のための留学を命じられた。有機化学を志向していた柴田にとっては自分には到底できないこととしてこの桜井の申し出を一



写真1. 柴田雄次

旦は断った。しかし桜井は「君の研究は有機化学であろうと無機化学であろうと好むままでよろしい。ただ帰朝後は無機化学の講義をしてくれればよく、留学先も自由に選んでよろしい」との桜井の言葉に逆らうことができず、遂に決心して、当時『無機化学の領域における新見解』の書を著して、新しい錯体化学の領域を切り拓こうとしていたスイスのA.ウェルナーWerner教授の許に行くことに決めて日本を出発した。

チューリヒに着いてそこで留学中の眞島利行と朝比奈泰彦に迎えられた柴田は目指すウェルナー教授がドイツのウエルツブルグ大学へ移るために視察旅行中であるという思いがけない話を聞いた。落胆した柴田は急遽ベルリンに滞在中の兄の桂太を訪ねて新しい留学先を相談した。結局兄と一緒にライプチヒに移り、その大学のA.ハンチHantzsch研究室に入るようになった。

柴田がハンチから与えられたテーマはコバルト塩類の色の变化を紫外吸収スペクトルで調べることであった。ここではじめて柴田は分光化学的手法を習得したことが後の研究に役立つことになった。一年間でこの仕事を終えた

頃、ウェルナーがウエルツブルグ大学へ移るのを止めてチューリヒ大学に留まっていることが分かり、柴田は改めてウェルナー研究室へ移ることをハンチに申し出た。ハンチはライプチヒ大学に赴任する前にチューリヒ工業大学に勤めていた時代があり、そのときウェルナーがその助手として働いていたという縁があって、ハンチは快く柴田の申し出を受けてウェルナーへの推薦状を書いてくれた。

その頃、ウェルナー研究室では新しい原子価理論に基づく錯塩(Complex salt, 今日では錯体と呼ばれる)の配位説が一般に認められるために最も重要な根拠となる錯塩構造の分子不斉による光学異性体分割の実験が行われていて、それが英人留学生のキングKingによってはじめて成功した矢先で研究室は沸いていた。柴田はコバルト錯塩 $[\text{Co en}_2(\text{NH}_3)_2]^3+\text{X}_3$ を合成し、その光学異性体の分割を行ってウェルナーの期待に応えた。

柴田は予定の留学期間の最後の年をさらにフランスのパリのソルボンヌ大学のG.ユルベンUrbanの許で希土類化学を学ぶために留学することにした。ユルベンはしかし希土類元素の研究は面倒な分別結晶の手法が多く長年月を要するので、短期の外国留学生には不適当であるとして吸収スペクトルによる金属錯塩の色の研究のテーマを与えた。不思議なことに柴田が欧州で渡り歩いた三ヶ所の研究室での研究対象はいずれもコバルト化合物であった。それがまた帰国後の柴田の研究を方向づけることになった。さらに幸運

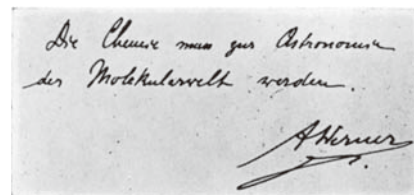


写真3. ウェルナーの自筆

「化学は分子世界の天文学であらねばならない」

【『日本の化学と柴田雄次』所載】



写真2. チューリヒにおける朝比奈泰彦(左)、眞島利行(中央)、柴田雄次(右)





写真4. チューリッヒ大学ウェルナー研究室の人々  
 前列左より3人目がウェルナー、右より3人目が柴田  
 【『日本の化学と柴田雄次』所載】

なことに丁度その時ユルベン研究室が注文していたAdam Hilger社の新鋭の石英分光器が到着した。柴田はこの分光器の操作を任せられ、合成した25種のコバルト錯塩を用いてその吸収スペクトルを観測し、系統的な分光化学的研究に先鞭をつけることができた。

不思議な縁の糸に操られたような柴田の3年間の欧州留学体験は柴田個人のその後の研究のみならず、わが国の新しい化学の研究分野の開拓に多大の貢献を果たすことになった。

大正2年(1913)に帰国した柴田は東京帝国大学理科大学の助教授に任命され、無機化学および分析化学の講義を担当して多忙な生活に入った。フランス滞在中に注文していたAdam Hilgerの石英分光計も到着して、わが国はじめての分光学研究が開始された。柴田は松野吉松から始まる協同研究者にも恵まれ、コバルトのみならずニッケル、クロム、銅をはじめとする

百種以上の錯塩の構造と発色の関係の研究を継続し、錯体の吸収スペクトルの体系的研究を達成した。大正10年(1921)に柴田は『分光化学』(裳華房刊)を著しこの分野の研究成果をまとめた<sup>1)</sup>。

わが国ではそれまで配位化学は全くの処女地であったが、柴田によって播かれた種子はその門下生たちによって着実に育てられて行った。松野吉松による金属錯塩による水膠液の凝固に関する研究、井上敏による錯塩生成の新検出法、植田龍太郎による錯塩水溶液および微細結晶の吸収スペクトル研究などとして開花して行った。昭和22年(1947)には植村琢によりウェルナー生誕記念祭が開催された。これが契機となって日本化学会主催の錯塩化学討論会が毎年開かれることになった。

柴田がフランスのユルベン研究室で留学最後の1年間を過ごした経験は日本に新しい地球化学の研究が拓かれる

端緒ともなった。帰朝後に柴田がフランス科学書の輪読会を始めて多くの人々を糾合して次々と和訳書を刊行した。その中でV.I.ベルナドスキイ Vernadoski著の“Géochimie”の書に遭遇したことが機縁となり、地球化学に関する外国文献を講読する地球化学会が始められ、それが地球化学討論会に発展することになった。柴田をはじめとして木村健二郎、植村琢らとともに美濃苗木石の分析から始まるフェルグソン石、モナズ石などの希元素鉱石の科学的研究が開始された。それが今日日本の地球化学がこの領域で世界的に指導的立場に発展する契機となった。

次に柴田は令兄桂太との協同研究として植物化学関係の仕事を行った。まず植物色素アントシアンの花色の研究がある。花の赤色についてはR.ウィルステッター Willstätterによるアントシアニンの構造が提出されていたが、塩基性で青色に変じるのはその



フェノラートによるとされていたことに柴田らは疑問を持ち、その青色はアントシアニンがマグネシウムと錯化合物をつくるという説を立てた。しかしこれはウィルステッター一派により痛烈な反論を受けたが、後に服部静夫や林孝三によりこの錯体説が確証されたのみならず、最近に至り後藤俊夫らによりツククサの青色色素コンメリニンの化学構造がX線解析によりアントシアニンのマロニルアオバニンとフラボンのフラボコンメリニンの重層構造の中心にマグネシウムが存在する構造が確定したことは、柴田兄弟により先鞭をつけられた花色色素の研究の大団円であった<sup>11)</sup>。

また桂太、雄次兄弟による協同研究として植物体におけるフラボン類色素の存在意義についての提唱がある。葉緑植物の同化作用には赤色光線のエネルギーが必要であるが、紫外線はむしろ有害であるはずである。フラボン類はこの紫外線を吸収して葉中で紫外線遮蔽効果の役割を担っていることを明らかにした。

植物における金属錯体についてのもうひとつの研究はフラボン色素にコバルト錯塩を滴下すると褐色の沈殿を生じることに端を発して山崎一雄とともに金属錯体の酵素的酸化還元作用の機構を解明し、錯体の中心金属に配する水分子の活性化によるとの説を提出したことである。

柴田は昭和2年(1927)にそれまでの業績により学士院恩賜賞を受賞し、同年柴田は新設された学術研究会議、今日の学術会議の会員に選ばれた。昭和4年(1929)にはリエージュで開催された万国化学協会第10回会議に日本代表として出席し、世界大戦の戦後処理としてのドイツ加入の問題に腐心した。

柴田は古美術の科学的研究にも関心を示し、昭和14年(1939)には法隆寺壁画保存調査委員会の委員を嘱託され、古代の染料、顔料などを研究する

古文化財自然科学研究会を立ち上げた。それが国立博物館内に古文化財研究所が設けられるきっかけとなった。また柴田は正倉院御物の保存・調査にも委員として貢献した。

昭和17年(1942)に柴田は東京大学理学部教授を定年退官し、同年新設された名古屋大学理学部の学部長に就任した。名古屋は柴田の父承桂の出身地で、柴田家は代々尾張藩の藩医を勤める家柄であったので、名大赴任もその機縁であった。新設の理学部を充実させる間もなく、戦争が苛烈となり、研究室もすべて疎開した後も柴田は学部長として独り留まった。戦争が終り、延び延びになっていた引退も漸く昭和23年(1948)に実現し、柴田はその機会に自伝「化学界四十年の見聞」を雑誌『化学の領域』に投稿した<sup>2)</sup>。

柴田の社会的活動は名大退官をもって終わらなかつた。翌昭和24年(1949)に今度は東京都立大学総長に就任し、新制大学の教育のために新たな意欲と努力を重ねることになった。さらにはまた昭和26年(1951)には日本化学会に創設された化学教育委員会の初代委員長に推されて、現在まで続いている同委員会の基礎を築いた。

昭和37年(1962)11月3日に柴田はこれまでの数々の業績と貢献に対して文化功労賞の榮譽を受けた<sup>5)</sup>。この年の1月に柴田は第11代の日本学士院院長に選ばれ、その後規則によって昭和45年(1970)に退任するまでその任を全うして、満88歳にしてはじめて束縛のない自由の身となった。それから10年後の昭和55年(1980)1月28日の丁度満98歳の誕生日を迎えた日に長い一生を閉じた。

この拙稿は文献に挙げた多くの資料特に田中実著『日本の化学と柴田雄次』、柴田雄次「化学界四十年の見聞」を主として参考にさせていただいてまとめたものである。門下の方々や関係

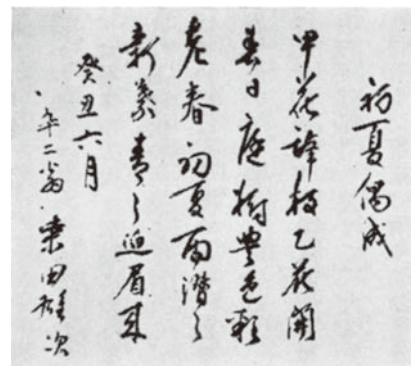


写真5. 柴田雄次漢詩 昭和48年  
〔『日本の化学と柴田雄次』所載〕

者が多くおられる中で、門外漢の私がかただ既知の資料をもとにまとめて紹介させて頂いたのは、与えられた責めを果たすための所業としてその非礼を免ぜられんことを願いつつ筆を擱く。

#### 【参考文献】

- 1) 柴田雄次：『分光化学』，(裳華房) 大正10年(1921)。
- 2) 柴田雄次：「化学界四十年の見聞」I, II, III, 完, 化学の領域, 2, 254, 335, 396 (1948), 3, 2, (1949)。
- 3) 柴田雄次：「私と錯塩化学—ウェルナー(Werner)の思い出」, 科学知識, 昭和44年4月号, 32 (1969)。
- 4) 柴田雄次：「わが思い出、無機化学」①～⑦, 科学新聞, 昭和44年3月7, 14, 21, 28日, 4月4, 11, 18日 (1969)。
- 5) 柴田雄次、植村琢：「お慶びの柴田雄次先生をたずねて」, 化学と工業, 16(1), 60 (1963)。
- 6) 柴田雄次、長倉三郎、松井義人：「分光化学の夜明け」, 科学, 35(3), 133 (1965)。
- 7) 柴田雄次：「我家の化学百年」, 化学と工業, 21(5), 1968。
- 8) 柴田雄次、山崎一雄：『新訂無機化学攷要』(南江堂) (1972)。
- 9) 田中実：『日本の化学と柴田雄次』, (大日本図書) 昭和50年 (1975)。
- 10) 黒谷寿雄：「柴田雄次先生と錯塩化学」, 化学, 35(10), 786 (1980)。
- 11) Kondo, T., Yoshida, K., Nakagawa, A., Kawai, T., Tamura, H. and Goto, T.: Nature, 358, No. 6386, 6, August (1992)。

## 二量体SOD酵素の構造変化とその検出法

山形大学理学部 西田 雄三

### はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は上位および下位運動ニューロンが選択的かつ系統的に傷害される代表的な運動疾患である。有病率は人口10万人あたり2~6人で、世界各地ではほぼ一定しているが、西南太平洋に分布するグアム島、西部ニューギニア、本邦の紀伊半島、グレートアイランド (オーストラリア) は本症の多発地域として有名である<sup>1,2)</sup>。現在でも有効な治療法は発見されておらず<sup>3)</sup>、患者とご家族の苦悩は計り知れない。

ALSのほとんどは孤発性であるが、5~10%が家族性 (FALS) に発症することが知られている<sup>1,2)</sup>。このFALSについて徹底的な調査が行われた結果、FALSには原因遺伝子が複数存在することが指摘され、1993年21q22.1に存在するSOD1遺伝子の変異が明らかにされた<sup>4)</sup>。SOD1遺伝子の100bp前後の小さなエクソンのすべてに点変異が観測されているが、正常コントロールには変異は全く存在していない。現在までに100を超える変異が見つまっている<sup>5)</sup>。

SODは、体内で生成する活性酸素種のひとつであるスーパーオキシドイオンを酸素と過酸化水素に分解する。生成した過酸化水素はグルタチオンペルオキシダーゼ、カタラーゼなどで水と酸素に分解される。さて、このSOD1酵素における変異がどのようにALS発症と関連しているかが最大の問題である。SOD酵素の変異による効果としてスーパーオキシドイオンの分解能が問題となる。確かに、いくつかの変異型ではSOD活性は正常型の40~50%までに落ち込んでいるが、しかしほとんど活性が落ちていないものも多い<sup>2,6)</sup>。例えば、Asp90Ala変異は正常コントロール型の90%以上、Gly93Aspは86%の活性がある。Gly93Ala変異SOD1を過剰発現させたマウスは生後3~4ヵ月後から筋力低下を発症し、5ヶ月までには死亡するが、このマウスではコントロールの4倍以上のSOD活性がみられる。このように高いSOD活性がありながら細胞障害が生じるというのは、単にSOD活性の低下のみで運動ニューロンの変性メカニズムを論じることができないことを示している。

現在の中心的な考え方は、「変異SOD1が構造変化によって神経細胞に対する細胞毒性機能を新たに獲得したことが原因で、

ニューロンの変性が起きる」というものである<sup>7)</sup>。これを、“gain-of-function”と呼んでいるが、この“gain-of-function”の真の発現機構も解明されていなかった。

### 二量体SOD酵素のモノマーへの解離とその検出法

変異SODによる毒性の原因については、SODの構造解析の結果から、分子表面のβ鎖に集中している変異が原因でβバレル構造が歪み、SOD1サブユニットの二量体形成が阻害され、モノマーへ解離し、SOD酵素の会合体形成が進行することが原因であろうと指摘されてきた<sup>6,8-10)</sup>。蛋白の会合体形成は多くの神経性疾患に共通に見られる現象<sup>11)</sup>であることは広く認識されているが、最近このSOD酵素の会合体とALS発症との関連性について疑問が投げられている<sup>12)</sup>。

最初にSOD二量体構造からモノマーへの解離反応から見てみよう。二量体SODの単量体への解離反応を調べる手法として、DLS (dynamic light scattering) 法がある<sup>13)</sup>。これは分子の大きさを直接的に測定する方法で、単量体と二量体ではその大きさが異なることを利用する。wild-type二量体SODの溶液に銅(II)イオン/アスコルビン酸溶液を加えると、モノマーへ解離することがDLS法で検出できる。この場合、更に生成したモノマーが会合体を形成することも観測されている。Wild-type二量体とmetal-freeモノマーはゲルろ過カラム法などで分離できることも明らかにされている<sup>7,14)</sup>。

われわれは二量体SODの構造変化・モノマーへの解離反応を検出する簡単な方法がないかを検討した。溶液中での蛋白質はいくつもの構造 (コンフォメーション) が可能である<sup>15)</sup>。どれか一つが主たる構造ということになれば、その存在比は非常に高くなる。一方、特にどの構造が有利というわけではないとき、いくつかのコンフォメーションが可能になるので、個々のコンフォメーションの存在確率は低くなる。これをキャピラリー電気泳動で観測すると、可能なコンフォメーションの数の少ない蛋白のシグナルは幅の狭い、強度の高いピークで観測され、一方、コンフォメーションの数が多い場合は、はっきりとしたシグナルが見えず、幅広い強度の弱いシグナルとなって観測されること

が多い。これは我々の測定結果から支持されている<sup>16,17)</sup>。この特徴を二量体構造を持つ2つのタンパク (SODとトランスフェリン) で比較すると面白い対応が見つかる<sup>18)</sup>。(SODのCEについては図1、Aを参照されたい)。濃度を同じにしても2つの蛋白のCE強度は相当に異なる。トランスフェリンは、SODと同じ二量体構造を持つタンパクではあるが、その二量体としてのコンフォメーションはSODほど固定されていないことが、シグナル強度が弱い原因だと思われる。

二量体SOD酵素に、Cu(II)/アスコルビン酸溶液を加えると、二量体SODがモノマーへ解離することがすでにDLS法から明らかにされているが<sup>13)</sup>、同じ溶液のCEを測定してみると、二量体種に相当するシグナル強度 (図1、A、参照) が大きく減少する。これらの結果よりわれわれはSOD酵素の二量体の構造変化・モノマーへの解離をCEでの二量体構造に相当するシグナル強度でもって簡便に判定できるようになった。

### “gain-of-function” と SOD 二量体構造の変化

1993年、Yimらは正常型、および変異SODに過酸化水素とDMPO (スピントラップ剤) を加えた溶液のESRスペクトルの結果から、変異SODは正常型と比較して過酸化水素を異常に活性化できることを報告した<sup>19,20)</sup>。これは、変異SODでの二量体構造での表面相互作用が低下しており、モノマーへの解離が容易になり、銅(II)イオンと過酸化水素との相互作用が可能になったためと判断された。(“gain-of-function”) しかし、正常型SODでもDMPO-OHが観測されることにはほとんど注意が払われていなかった。

SOD酵素との過酸化水素との反応に関する研究報告は多い<sup>21)</sup>。まとめてみると、①SODは過酸化水素で不活性化される、②2つある銅(II)イオンのうち1つの銅(II)イオンの還元が起きる、などが知られている。これは過剰の過酸化水素の存在下ではSODは非対称な状況が形成されることを示唆している。この状況下では、二量体構造に不安定化が生じることが結晶構造の研究から指摘されているが<sup>22)</sup>、溶液中で確認されていなかった。

我々は、上で得たCE法の特徴を考慮し

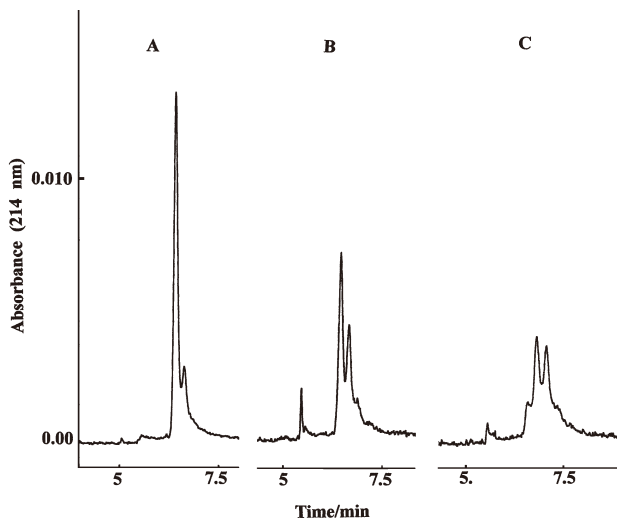


図1. Wild-type SODに過酸化水素を加えた溶液のCE(P/ACE, MDQで測定)<sup>23)</sup> A: SOD (1 mg/1 mL) B: 加えた直後 C: 60分後。

て、SODに過酸化水素を加えたときのCE変化を入念に検討した。その結果、過酸化水素の添加で、SODの二量体構造に相当するシグナル強度が大幅に減少することが明らかになった(図1、B、C、参照)<sup>23)</sup>。この挙動は、すでにのべたSODに銅(II)/アスコルビン酸系を加えたときとよく似ている。ピーク強度の減少は加えた過酸化水素の量と、時間に依存する。これは溶液中で過剰な過酸化水素の存在で、正常型SODでもその二量体構造の解離・構造変化が起きることを示唆し、Yimらの結果と矛盾しない。

SODはスーパーオキシドイオンを酸素と過酸化水素に分解する酵素であるが、生成した過酸化水素がSOD酵素中に残る状況が続くことは非常に危険である。正常型SODでは過酸化水素は離れやすいのであるが、それがSODの構造とどのように結びついているかである。

それに関して、我々はモデル錯体を用いて調べた。その結果、周辺の微妙な構造変化によってもととなかった銅(II)イオンによる過酸化水素捕獲能力が新しく出現し、このようにして捕捉された過酸化水素は蛋白のC-N結合の切断、メチオニンの硫黄原子上での酸化反応、DNA切断反応、を触媒する、などの作用を示すことを見出した<sup>24,25)</sup>。これらのことから変異SODで生成した過酸化水素による“gain-of-function”の発現機構が明らかにされたのであるが、この変異SODにおける過酸化水素による異常な反応性を理解するには、これまでの酸素分子に関する議論を180度

転換させる必要がある。詳細は総説を参照されたい<sup>26)</sup>。

## おわりに

SOD変異をもつ症例は、ALS全体から見ればほんの数%前後を占めるに過ぎず、これまで述べてきたFALSに関する研究成果が、孤発性ALSの病因解明に直結するかは不明ではあるが、正常型SODも過酸化水素で障害を受ける事実からして、SOD二量体構造がいわゆる変異による“gain-of-function”以外の原因で壊れる可能性を調べることは、孤発性ALS発症を考える上でも非常に重要な問題であろうと思っている。事実、孤発性ALSについては過酸化水素を中心とした酸化ストレスとSOD酵素との関連性を指摘する論文は多い<sup>27,28)</sup>。その意味で、CE法を利用するSOD構造変化を簡便に調べる手法が開拓されたことは大きな意味を持っているし、また今回の研究成果は孤発性プリオン病(BSE, ヤコブ病など)の発症機構を考える上でも重要である<sup>29-31)</sup>。

## 【参考文献】

- 1) Yase, Y.: *Brain Medical*, **7**, 17-20 (1995).
- 2) Nakano, R.: *Brain Medical*, **8**, 35-41 (1996).
- 3) 日出山拓人、河原行朗、郭伸: 医学のあゆみ, **212**, 937-944 (2005).
- 4) Rosen, D. R. *et al.*: *Nature*, **362**, 59-62 (1993).
- 5) Sato, T. *et al.*: *Neurology*, **65**, 1954-1957 (2005).

- 6) Vijayvergiya, C. *et al.*: *J. Neuroscience*, **25**, 2463-2470 (2005).
- 7) Furukawa, Y. and O'Halloran, T. V.: *J. Biol. Chem.*, **280**, 17266-17274 (2005).
- 8) Andreas, P. *et al.*: *Brain*, **127**, 73-88 (2004).
- 9) Johnston, J. A. *et al.*: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **97**, 12571-12576 (2000).
- 10) Hornberg, A. *et al.*: *J. Mol. Biol.*, **365**, 333-342 (2007).
- 11) Radford, S. E.: *Trends Biochemical Science*, **25**, 611-618 (2000); Buccintini, M. *et al.*: *Nature*, **416**, 507-511 (2002).
- 12) Yamanaka, K. and Cleaveland, D. W.: *Neurology*, **65**, 1859-1860 (2005).
- 13) Rakhit, R. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **279**, 15499-15504 (2004).
- 14) Desideri, A. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **272**, 81-83 (2000).
- 15) James, L. C. and Tawfik, D. S.: *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 361-368 (2003).
- 16) Kishita, A. and Nishida, Y.: *Annu. Rep. CIN.*, **2004**, 1-6.
- 17) Kishita, A., Nishino, S. and Nishida, Y.: *Synth. React. Inorg. Metal-org. NanoMetal Chem.*, **35**, 379-383 (2005).
- 18) Sutoh, Y., Nishino, S. and Nishida, Y.: *Chem. Lett.*, **34**, 140-141 (2005).
- 19) Yim, M. B. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **268**, 4099 (1993); *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 5709 (1996); *J. Biol. Chem.*, **272**, 8861 (1997).
- 20) W.-Pazos, M. *et al.*: *Science*, **271**, 515-518 (1996).
- 21) Liochev, S. I. and Fridovich, I.: *J. Biol. Chem.*, **277**, 34674-34678 (2002).
- 22) Hough, M. A. and Hasnain, S. S.: *J. Mol. Biol.*, **287**, 579-592 (1999).
- 23) Chiba, Y., Sutoh, Y. and Nishida, Y.: *Z. Naturforsch.*, **61c**, 273-277 (2006).
- 24) Nishino, S. *et al.*: *Z. Naturforsch.*, **54c**, 94-99 (1999).
- 25) Nishino, S. and Nishida, Y.: *Inorg. Chem. Commun.*, **4**, 86-89 (2001); Nishino, S. *et al.*: *Inorg. Chem. Commun.*, **3**, 145-147 (2000); Nishino, S., Kishita, A. and Nishida, Y.: *Z. Naturforsch.*, **56c**, 1144-1149 (2001).
- 26) Nishida, Y.: *The Chemical Times*, 2007, 2-15.
- 27) Cova, F. *et al.*: *Neuroscience Lett.*, **399**, 186-190 (2006).
- 28) Furukawa, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 7148-7153 (2006); Deng, H.-X. *et al.*: *ibid.*, **103**, 7142-7147 (2006).
- 29) Nishida, Y.: *Medical Hypothesis Research*, **1**, 227-245 (2004), [http://www.journal-mhr.com/PDF\\_Files/vol\\_1\\_4/1\\_4\\_PDFs/1\\_4\\_2.pdf](http://www.journal-mhr.com/PDF_Files/vol_1_4/1_4_PDFs/1_4_2.pdf).
- 30) 西田雄三: 「BSEの化学」(牧歌舎) (2004).
- 31) Nishida, Y.: *Inorganic-Biochemical Perspectives of Sporadic Prion Diseases*, CIN Press (2006). <http://repo.lib.yamagata-u.ac.jp/bitstream/123456789/107/1/rep.01.pdf>.



## スーパーセップ™用電気泳動槽



### イージーセパレーター™

従来よりご好評いただいておりますスーパーセップ™用電気泳動槽「スーパーセパレーター™」を全面改良し「イージーセパレーター™」として発売しました。ゲルのセット、取り外しが簡単になり、バッファース量も少ない経済的な設計です。

#### 特 長

- 操作が簡単
  - ・ ノブを回転させるだけでゲルプレートセット、取り外しできる
  - ・ 電気泳動後、ランニングバッファを取り除くことなくゲルが取り出せる
- 少量のランニングバッファで泳動可能 (約250~350ml)



#### 使用法

##### Easy Set



①ゲルプレートを差し込みます



②ノブを内側に回します

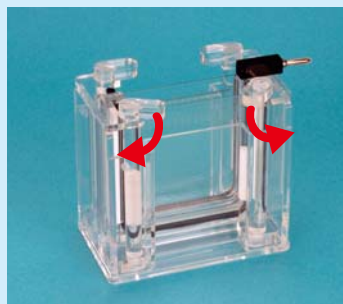


③セット完了です

##### Easy Remove



①カバーを外します



②ノブを外側に回します



③(泳動バッファを取り除くことなく)ゲルプレートを取り出します

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
058-07681	EasySeparator™	電気泳動用	1セット	45,000

※スーパーセップ™は p.22 をご参照下さい。

掲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。

記載希望納入価格は本体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. 75 No. 3

2007年7月20日発行

発行責任者 松田知憲

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 共進社印刷株式会社

●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 [jiho@wako-chem.co.jp](mailto:jiho@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。

Please contact us to get detailed information on products in this journal.

■和光純薬工業株式会社 (Japan) <http://www.wako-chem.co.jp>

フリーダイヤル (日本のみ) 0120-052-099 / Tel 81-6-6203-3741

フリーファックス (日本のみ) 0120-052-806 / Fax 81-6-6201-5964

E-mail [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)

■Wako Overseas Offices :

・Wako Chemicals USA, Inc. <http://www.wakousa.com>

Toll-Free (U.S. only) 1-877-714-1920

Head Office (Richmond, VA) : Tel 1-804-714-1920 / Fax 1-804-271-7791

Los Angeles Sales Office (Irvine, CA) : Tel 1-949-679-1700 / Fax 1-949-679-1701

Boston Sales Office (Cambridge, MA) : Tel 1-617-354-6772 / Fax 1-617-354-6774

・Wako Chemicals GmbH <http://www.wako-chemicals.de>

European Office (Neuss, Germany) : Tel 49-2131-311-0 / Fax 49-2131-311100