

〔総説〕

「マルチテンプレート手法によるサリドマイドの構造展開と活性拡張

(ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ阻害剤: PAQ-22 と DAMPAQ-22)

橋本 祐一 …… 2

「NSAIDs 潰瘍の「悪の枢軸」はシクロオキシゲナーゼ 1 (COX-1) 阻害か?

胃潰瘍形成の無い鎮痛剤としての有用性提示を指向した COX-1 選択的阻害剤 TFAP の開発

加来田 博貴 …… 6

「Sequestosome1/A170/p62/ZIP から探るオートファジーの新しい調節機構」

石井 哲郎、藤 栄治 …… 10

「第 24 回 Wako ワークショップ見聞録」

富田 泰輔 …… 13

〈テクニカルレポート〉

「TRAP/ALP 染色キット」

光葉 麻理 …… 16

〔百年前の化学〕

「1909 年の化学を顧みて」

芝 哲夫 …… 29

〔製品紹介〕

有機合成

ゼルンボン …… 18

環境・分析

ポジティブリスト関連標準品 …… 18

ポリソルベート 80 標準品 …… 20

日本薬局方収載 生薬試験用試薬類 …… 20

メラミン及びメラミン関連化合物標準品 …… 32

遺伝子

抗タグ、モノクローナル抗体 (6×His、GST、c-Myc、HA) …… 21

マイクロ RNA アイソレーションキット、マウス Ago2 …… 22

低分子 DNA 断片除去試薬 「DNA クリーナー」 …… 23

機器

マイクロプレートリーダー 「インフィニット M1000」 …… 27

細胞生物

PSA 阻害剤・蛍光プローブ「PAQ-22」、「DAMPAQ-22」 …… 5

COX-1 阻害剤 「TFAP」 …… 9

抗 SQSTM1/A170/p62, ウサギ …… 12

TRAP/ALP 染色キット …… 17

エラスチン分画品, 水溶性, ブタ大動脈由来 …… 23

薬理研究用試薬 …… 24

ツナキサンチン …… 25

グルタミン酸受容体作用物質 …… 26

LPS (リポポリサッカライド) …… 26

マウス、ラット高分子アディポネクチン測定キット …… 27

β-セクレターゼ、ヒト、組換え体 …… 28

〔Q&A〕

βアミロイド ELISA キット …… 28

1 はじめに：ドラマタイプ手法とマルチテンプレート手法

筆者らはこの数年、生物活性化合物の創生手法として「ドラマタイプ手法」と「マルチテンプレート手法」を発信してきた。いずれも標的分子として特異的なタンパク質を念頭に置いているが、前者は、特異的タンパク質の動的な構造変化（フォールディングや他因子との相互作用、エピジェネティックな化学修飾など）を標的にした活性分子の創生法で、例えば核内受容体の部分構造（ヘリックス 12）のフォールディングを誘導するアゴニスト、それを阻害するアンタゴニストの創生などが代表例である¹⁾。

一方後者は、標的タンパク質を剛体と見なし、多種多様な標的タンパク質に対して共通に結合しうる小分子骨格をテンプレートとして設定し、当該のテンプレートに構造展開を施すことによって、各々の標的タンパク質に対する特異性を付与する手法である。本法には、標的タンパク質の構造的類似性を起点とする方法と、多岐にわたる生物活性を示す小分子生理活性物質を起点とする方法がある。前者の一例は、ジフェニルペンタン骨格をマルチテンプレートとする各種核内受容体リガンドならびにステロイド代謝酵素阻害剤等の創生であり²⁾、後者の代表例が、本稿で概説する「サリドマイドをマルチテンプレートとする各種生理活性物質の創生」である³⁾。

2 マルチテンプレート手法の考察基盤

1990年代末、Schreiber教授は、「すべてのタンパク質についてその機能制御を行なう小分子化合物を創生する」、「そしてこれを用い、引き起こされるフェノタイプの変化の観察を行なうことで、そのタンパク質の機能を解明す

る」、という、ケミカルジェネティクスの分野を切り拓いた⁴⁾。一方、創薬探索研究においては、ケミカルライブラリーを用いたハイスループットスクリーニング（HTS）によるシーズ探索が主要な地位を占めている。ケミカルジェネティクスにおいてもHTSにおいても、保有するケミカルライブラリーの「質」の善し悪しはその成否を決定する要因である。

ヒトのタンパク質は5万～7万種存在すると言われ、それらは様々なアミノ酸一次配列を持つドメイン構造からなる。一次配列は多様であるが、それら各々の化学的性質を無視してトポロジカルな形（フォールド構造という）だけに着目すると、わずか1000種ほどの立体構造に限られるとされている⁵⁾。ということは、ある一つのフォールド構造に適合する（小分子）構造をテンプレート〔活性化合物のコア部分となる共通基本母核：スキヤフォールド（scaffold）とも言う〕に設定すれば、（各フォールド構造が平均的にすべて

のタンパク質に分散しているとして）、50～70種のタンパク質に対して親和性を有する化合物が創生できることになる。また、1000種のテンプレートがあれば、それらですべてのタンパク質に対する親和性化合物がカバーできることになる。各タンパク質に対する特異性は、当該タンパク質の化学的性質（アミノ酸一次配列）を考慮して、設定したテンプレートに構造修飾を施せばよい（図1）。

ヒト生体内でのわかりやすい事例はステロイドホルモンであり、それらの受容体のリガンド結合ドメインはアミノ酸一次配列の相同性が低い場合でも（高い場合は当然であるが）共通のステロイド骨格を有する化合物をリガンドとしている。ステロイド骨格もそうであるが、上で述べたテンプレートは往々にして、機能的・進化的・分布的に全く関連のないタンパク質群に共通であり得るため、そのような母核構造を「マルチテンプレート」と呼ぶことにしている。

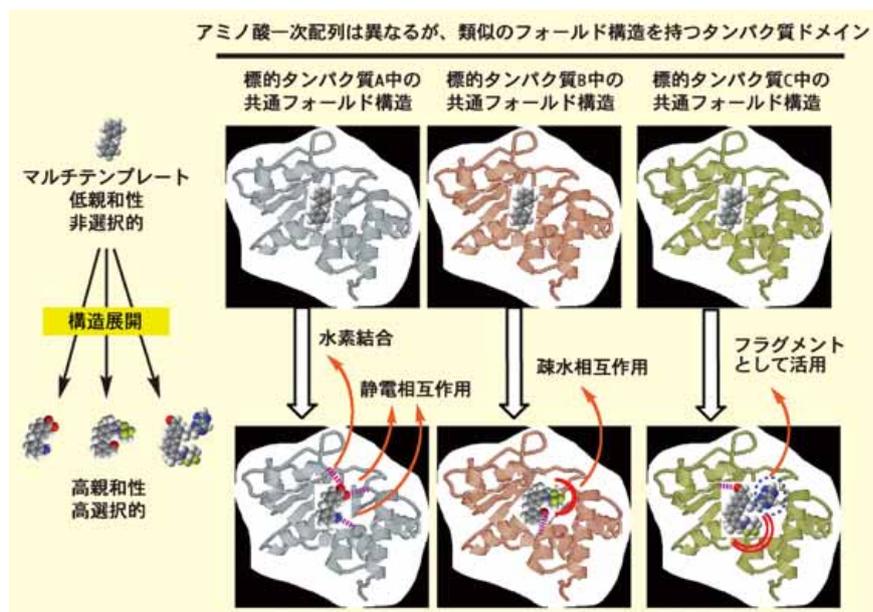


図1. マルチテンプレート手法の概念図

トポロジカルに共通のフォールド構造は多くの異なるタンパク質に存在する。あるフォールド構造のすべてに形状的に適合する小分子骨格がマルチテンプレートである。マルチテンプレートに対して、各フォールドに固有のアミノ酸一次配列と水素結合や静電相互作用、疎水相互作用等が可能な官能基を導入することによって、各標的タンパク質に強力かつ特異的に結合する化合物が創生できる。

3

マルチテンプレートとしてのサリドマイド

マルチテンプレート構造の設定法としては、フォールド構造を元にしての *in silico* 分子設計等が一つの正攻法であろう。しかし一方で、多岐にわたる、かつ興味深い生理活性を示す小分子生理活性物質は、マルチターゲットである可能性が高く、それ自体が良好なマルチテンプレート構造を提示する可能性がある。筆者らはそのような小分子として、サリドマイドに着目した構造展開研究を遂行してきた³⁾。

サリドマイドは催奇形性ゆえに市場撤退した催眠薬として有名であるが、近年その各種難病に対する有効性が注目され、アメリカでは1998年にハンセン病治療薬として認可され、その後、多発性骨髄腫に対する有効性が確立し、欧米ならびに我が国において最近承認された。

サリドマイドは、多岐にわたる薬理作用（有害作用も含めて）を発揮する

が、その決定的な分子作用機序は不明である^{3,6)}。筆者らは、サリドマイドが体内で化学的にも代謝的にも不安定であり、少なくとも20種を下らない誘導体を生成し、それらの多くがそれぞれに固有の生物活性を有するを見出してきた。このことは、サリドマイドがマルチテンプレートとして有用な構造であり、その構造展開によって多くの分子標的に対する特異的な活性化合物が創生可能なことを意味している。詳細な各論は省くが、これまでに代表的なものとして、図2に示す活性化合物群が創生できている³⁾。直接結合することが分かっている標的分子だけでも、一酸化窒素合成酵素・シクロオキシゲナーゼ・ジペプチジルペプチダーゼIV・チューブリン・ヒストン脱アセチル化酵素・チミジンホスホリラーゼ・核内受容体（プロゲステロン受容体・アンドロゲン受容体・レチノイン酸受容体・肝臓X受容体）・ α -グルコシダーゼ・ μ -カルパイン・ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ、と多岐にわたり、サリドマイ

ドが生理活性物質創生のために有用なマルチテンプレートであることが実験的に実証できたと考えている。

4

ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ阻害剤

筆者らは上述の流れでサリドマイドの構造展開と活性拡張研究を遂行してきた。発表した活性化合物の中で、特に内外の研究者から分与依頼の多い化合物がピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ（以下、PSA）特異的阻害剤、PAQ-22⁷⁾ ならびにその蛍光プローブ、DAMPAQ-22⁸⁾ である（図3）。

これらの化合物の開発は、サリドマイドについて取りざたされていた（真偽は不明だが）がんの転移抑制作用に端を発する。がんの転移との関連から、がん細胞の浸潤阻害活性を指標にサリドマイドの構造展開研究を遂行し、ホモフタルイミド系化合物群の創生に至った⁹⁾。その後、これらのがん細胞浸潤阻害活性化合物の分子標的が

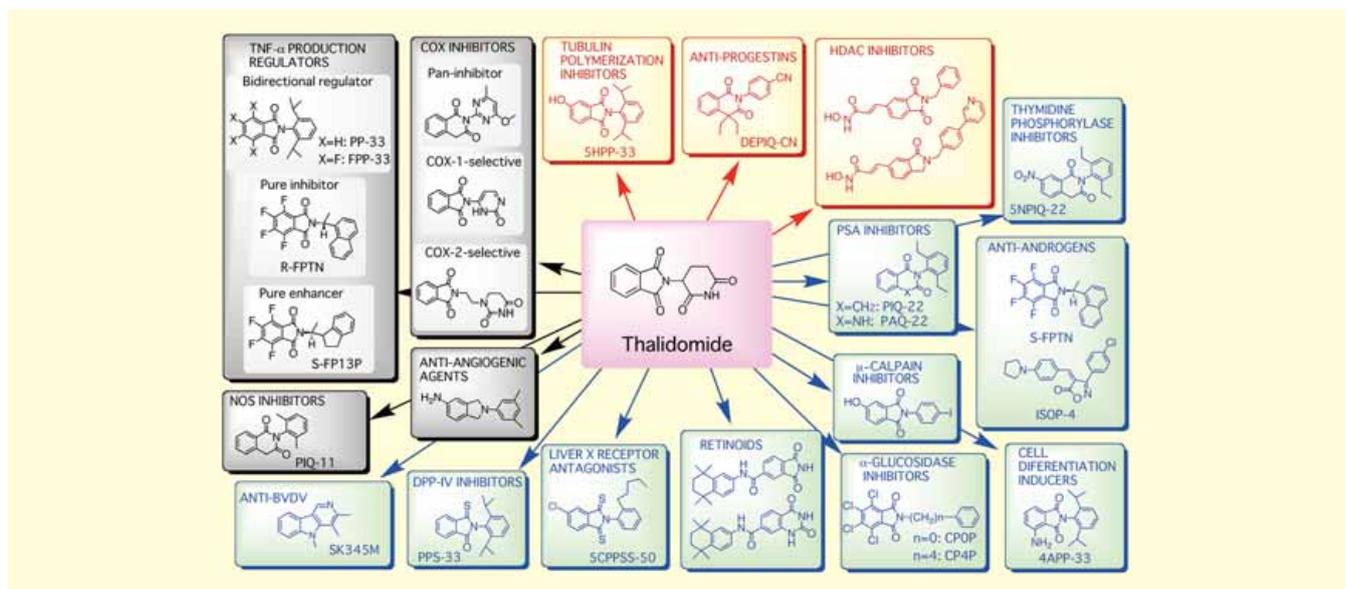


図2. サリドマイドの構造展開と活性拡張

黒：サリドマイド自体に認められる活性を指標にした構造展開

赤：サリドマイド自体には認められないが、サリドマイドの代謝物に認められる活性を指標にした構造展開

青：サリドマイドの示す生物作用から仮定した分子標的ないし標的事象を指標とした構造展開

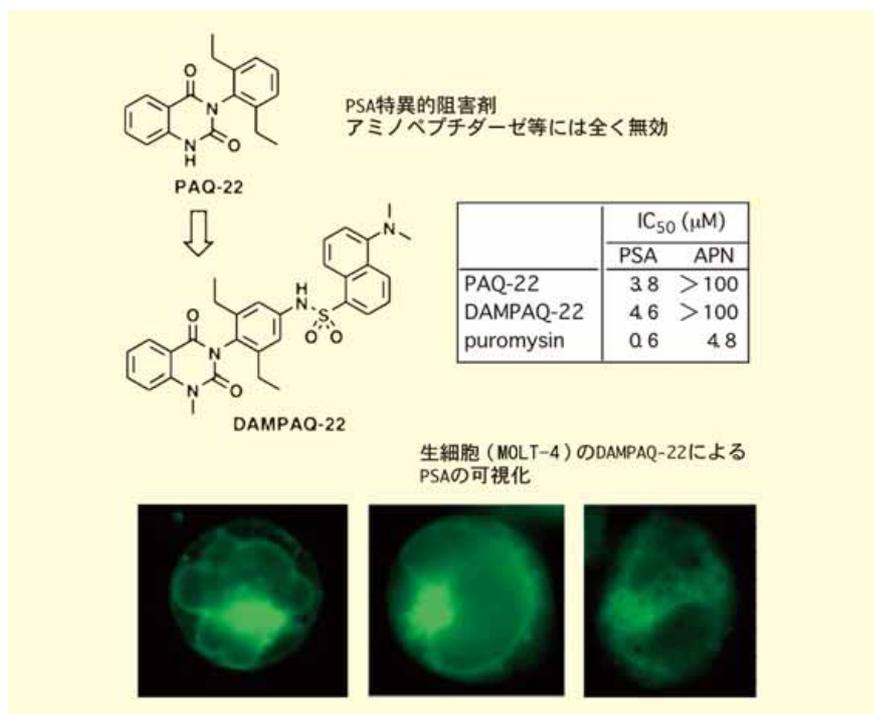


図3. ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ特異的阻害剤

PAQ-22 ならびに DAMPAQ-22 とピューロマイシンの、ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ (PSA) 阻害活性ならびにアミノペプチダーゼ N (APN) 阻害活性の比較。PSA の可視化については、細胞を培養条件下 10 μM の DAMPAQ-22 で 10min 処理し、そのまま顕微鏡写真撮影 (励起波長 320 nm、蛍光波長 510 nm) したものを。

PSA であること、さらには、これらが PSA と同じ基質を加水分解する類縁の酵素であるアミノペプチダーゼ N 等には全く無効な、特異的な PSA 阻害剤であること、が判明した⁹⁾。PSA についてはその生理機能の詳細が不明だが、少なくとも筆者らの研究は、PSA が新たながん細胞浸潤阻害剤の分子標的になり得ることを示している。残念ながら上記のホモフタルイミド系 PSA 阻害剤は、体内動態と安定性に優れなかったため医薬開発を断念し、更なる改良努力を遂行した。

その結果到達した化合物がキナゾリンジオン系の PSA 特異的阻害剤、PAQ-22 である⁷⁾。本化合物の開発過程で、構造活性相関に関する一定の解答も得られ、また、本化合物の PSA に対する特異性は、これが非競合阻害を分子機構とするためである

ことが推測された (図3)。得られていた構造活性相関情報を基に、PSA の生細胞における局在等を可視化するための蛍光プローブの開発も試み、DAMPAQ-22 を創生した⁸⁾。

これまでに PAQ-22 ならびに DAMPAQ-22 は広く研究者に分与したが、これらの化合物を用いることによって、例えば、PSA がアラビドプシスの減数分裂における必須因子であること¹⁰⁾、PSA の免疫機能や皮膚組織分化への関与^{11,12)}、PSA のタウロパシーとの関連、等が判ってきている。

5 おわりに

今回、本稿で紹介した PAQ-22 ならびに DAMPAQ-22 を和光純薬より市販していただく運びとなった。応用例の一部を上記で紹介したが、今後、こ

これらの PSA 特異的阻害剤を用いることによって、PSA の機能の全貌が明らかになると期待している。PAQ-22 ならびに DAMPAQ-22 の開発は、引用文献にある多くの共同研究者の成果によるものだが、特に、現・岡山大学薬学部准教授・加来田博貴博士に謝意を表したい。

【参考文献】

- 1) Hashimoto, Y. and Miyachi, H. : *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 5080-5093 (2005).
- 2) a) Hosoda, S. and Hashimoto, Y. : *Pure Appl. Chem.*, **79**, 615-626 (2007). b) *idem.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 5414-5418 (2007).
- 3) a) Hashimoto, Y. : *Arch. Pharm. Life Sci.*, **341**, 536-547 (2008). b) Hashimoto, Y., Tanatani, A., Nagasawa, K. and Miyachi, H. : *Drugs Future*, **29**, 383-391 (2004). c) Hashimoto, Y. : *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 461-479 (2002).
- 4) Schreiber, S. L. : *Bioorg. Med. Chem.*, **6**, 1127-1152 (1998).
- 5) a) Koonin, E. V., Wolf, Y. I. and Karev, G. P. : *Nature*, **420**, 218-223 (2002). b) Russell, R. B., Sasieni, P. D. and Sternberg, M. J. E. : *J. Mol. Biol.*, **282**, 903-918 (1998). c) Grishin, N. V. : *Struct. Biol.*, **134**, 167-185 (2001). d) Koch, M. A., Wittenberg, L.-O., Basu, S., Jeyaraj, D. A., Gourzoulidou, E., Reinecke, K., Odermatt, A. and Waldmann, H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **101**, 16271-16276 (2004).
- 6) a) 橋本祐一 : 血液・腫瘍科, **51**, 7-15 (2005). b) 野口友美, 橋本祐一 : がん分子標的治療, **3**, 16-23 (2005). c) 橋本祐一 : 血液フロンティア, **13**, 883-893 (2003).
- 7) a) Kakuta, H., Tanatani, A., Nagasawa, K. and Hashimoto, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 1273-1282 (2003). b) Kakuta, H., Koiso, Y., Takahashi, H., Nagasawa, K. and Hashimoto, Y. : *Heterocycles*, **55**, 1433-1438 (2001).
- 8) Kakuta, H., Koiso, Y., Nagasawa, K. and Hashimoto, Y. : *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 83-86 (2003).
- 9) Komoda, M., Kakuta, H., Takahashi, H., Fujimoto, Y., Kadoya, S., Kato, F. and Hashimoto, Y. : *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 121-131 (2001).
- 10) Sanches-Moran, S., Jones, G. H., Franklin, F. C. H. and Santos, J. L. : *Plant Cell*, **16**, 2895-2909 (2004).
- 11) Bukowska, A., Tadge, J., Arndt, M., Wolke, C., Kahne, T., Bartsch, J., Faust, J., Neubert, K., Hashimoto, Y. and Lendeckel, U. : *Biol. Chem.*, **384**, 657-665 (2003).
- 12) Thielitz, A., Bukowska, A., Wolke, C., Vetter, R., Lendeckel, U., Wrenger, S., Hashimoto, Y., Ansorge, S., Gollnick, H. and Reinhold, D. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 795-801 (2004).



ドラマタイプ

ジェノタイプ（遺伝子型）に遺伝情報発現環境が影響して規定されるフェノタイプ（表現型）に、さらに近隣環境が影響して初めて生きている生命現象としてのドラマが演じられる。ここではこれをドラマタイプ（演出型）と定義する。遺伝学的な定義はないが、ジェノタイプは遺伝子DNAの塩基配列により規定され、フェノタイプはタンパク質のアミノ酸配列により規定され、ドラマタイプは動的なタンパク質の構造変化（フォールディングや各種因子との相互作用、エピジェネティックなリン酸化等の化学修飾）により規定される、といった概念。

核内受容体

核内で機能する、リガンド依存的な転写因子群の一種。代表的には各種ステロイドホルモンの受容体であり、DNA結合機能をコードするドメイン

に高いアミノ酸配列相同性を有し、進化的に起源を一つにするファミリーを形成していると捉えられている。ヒトでは48種の核内受容体が存在し、各種ステロイドホルモン受容体の他、ビタミンAやチロキシンホルモン、活性型ビタミンD、酸化コレステロール、胆汁酸等の受容体が知られている。リガンドが不明なものも多い。

ケミカルライブラリーとハイスループットスクリーニング (HTS)

一般に活性物質を探索するソースとなる、系統的にデータの整理された化合物の集団をケミカルライブラリーと呼ぶ。数千から数万に及ぶ化合物からなるケミカルライブラリーに対して、特定の生物検定をランダムに行う（ランダムスクリーニング）と同時に、徹底的な薬理評価（大規模スクリーニング）を行うことがロボット工学の進歩により可能になっ

ており、これをハイスループットスクリーニング (HTS) という。

フォールディング

タンパク質は適切な三次構造をとって初めて本来の機能を発揮する。ここではそのタンパク質の三次構造の形成過程をフォールディングという。タンパク質の機能はこれを構成するアミノ酸の配列のみによるのではなく、むしろ、三次元的な形による。生体内ではタンパク質を適切にフォールディングさせるために、熱ショック蛋白 Hsp90 に代表される分子シャペロンを初め、様々な機構を準備している。フォールディングが異常となったタンパク質は通常、プロテアソームにより分解されるが、フォールディングの異常に起因する疾病は多い。白内障やゴーシェ病、アルツハイマー病、ハンチントン舞踏病を含むポリグルタミン病等はその代表例である。

Products



PSA特異的阻害剤・蛍光プローブ

PAQ-22

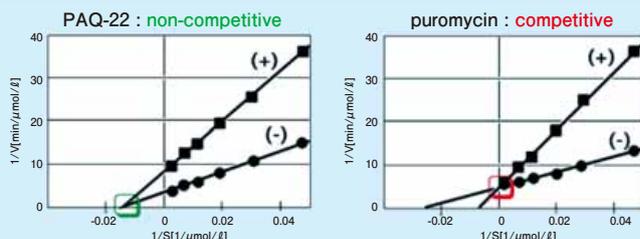
DAMPAQ-22

PAQ-22は、ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ (PSA) の阻害剤です。PSA活性はピューロマイシンによって阻害されますが、ピューロマイシンはPSA以外にも同様の基質特異性を有するアミノペプチダーゼN (APN) 活性も阻害します。本品はAPN活性を阻害することなく、PSA活性を特異的に阻害します。

DAMPAQ-22は、PAQ-22の蛍光プローブです。生体内のPSAの可視化に使用できます。

データ

PAQ-22及びピューロマイシンのPSA阻害活性



ヒトT細胞株 MOLT-4細胞を用い、蛍光性基質Ala-MCAのPSAによる分解によって生じる蛍光を指標にして、PAQ-22及びピューロマイシンのPSA阻害活性を測定し、ラインウェーバー・バークプロットを作成した。この結果より、ピューロマイシンは競合的な阻害剤であるのに対し、PAQ-22はPSA特異的な非競合阻害剤であることが確認できた。

(データご提供：東京大学分子細胞生物学研究所 橋本 祐一先生)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
165-23581	PAQ-22	細胞生物学用	10mg	20,000
049-30761	DAMPAQ-22	細胞生物学用	2mg	20,000

1 はじめに

消炎鎮痛剤として著名な非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) は、その副作用として胃腸障害が問題となっている^{1,2)}。この原因については、胃粘膜上に恒常的に発現し胃粘膜保護に重要なプロスタグランジンの合成を司る、酵素シクロオキシゲナーゼ 1 (COX-1) を NSAIDs が阻害するためだと考えられてきた^{3,4)}。しかし COX-1 阻害のみによる胃潰瘍形成の報告は無く、「COX-1 阻害は本当に悪か？」と感じずにはいられなかった。そこで著者らは COX-1 阻害に関する情報整理に加え、既知の COX-1 阻害剤とは分子構造の大きく異なる新規な COX-1 選択的阻害化合物を創出し、それによる胃潰瘍形成の有無、さらには、COX-1 阻害に基づく鎮痛作用について検討することにした。新規な COX-1 阻害化合物の分子設計は、非選択的ではあるが顕著な COX 阻害活性を示す indomethacin (1)⁵⁾ をリード分子に選び、

COX-1 内でのみ報告のあるその *s-trans* コンフォメーションを模倣して、同様なコンフォメーションで存在しうることとした。種々の構造変換の結果、COX-1 特異的阻害 (COX-1 IC₅₀ = 0.80 μM, COX-2 IC₅₀ = 210 μM) を示す TFAP (2) : *N*-(5-Amino-2-pyridinyl)-4-(trifluoromethyl)benzamide (図 1) の開発に成功した⁶⁾。さらに本化合物は、ラットに対し 300 mg/kg で経口投与しても胃潰瘍形成を認めず、鎮痛効果試験であるマウス酢酸ライジング試験ならびにラットホルマリン試験により経口投与 10 mg/kg で顕著な鎮痛効果を認めた。本総説により、COX-1 阻害に対するイメージを「悪者」から「胃潰瘍形成の無い鎮痛剤標的として魅力的なもの」へと変えられればと思う。

2 COX-1 阻害剤小史

否定的固定観念のため「悪者」としてのレッテルが貼られ、日の目を見な

い有用なものは数多くある。シクロオキシゲナーゼ 1 (COX-1) 阻害は、消炎鎮痛剤開発におけるその一例と言っても過言では無いかもしれない。シクロオキシゲナーゼ (COX) は、非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) の標的分子として知られる。COX には 3 つの亜種 (サブタイプ) の存在が知られるが、中でも COX-1 は胃腸粘膜上に恒常的に発現し、その産物であるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) が胃腸粘膜保護に寄与することから、その阻害は NSAIDs 潰瘍を生じうると考えられてきた。確かに、COX-2 選択的阻害薬は、胃潰瘍形成無く抗炎症作用を示す医薬品として認知されつつある。しかし COX-2 選択的阻害のみが胃腸障害のない抗炎症剤として有用である、という見方には重大な見落としがあった。COX-1 選択的阻害が胃潰瘍形成の元凶だという理論が Vane らにより提示された当時、またその後においても、COX-1 選択的阻害剤を用いると胃潰瘍形成が見られると言うデータが示されていないのである^{4,7)}。

そのような中、COX-1 阻害の一つの光があてられた。「COX-1 選択的阻害剤単独では胃潰瘍形成が見られない」という Wallace らの報告である⁸⁾。彼らの報告によると、COX-1 選択的阻害剤である SC-560 (3)⁹⁾ と COX-2 選択的阻害剤である celecoxib (4)¹⁰⁾ (図 1) をそれぞれ単独にラットに経口投与した場合は胃潰瘍形成が見られないのに対し、両方を同時に経口投与した場合には有意に胃潰瘍形成が認められたというのである。さらにこの事実を説明する報告が、Tanaka らによりなされた¹¹⁾。COX-1 阻害によりプロスタグランジン産生が低下すると、プロスタグランジンによって阻害されていた NF-κB が活性化し、COX-2 発現が誘導され、胃粘膜保護に必要なプロスタグランジン量が維持されると言うのである。つまり、COX-1 阻害だけでは胃潰瘍形成が生じえないという

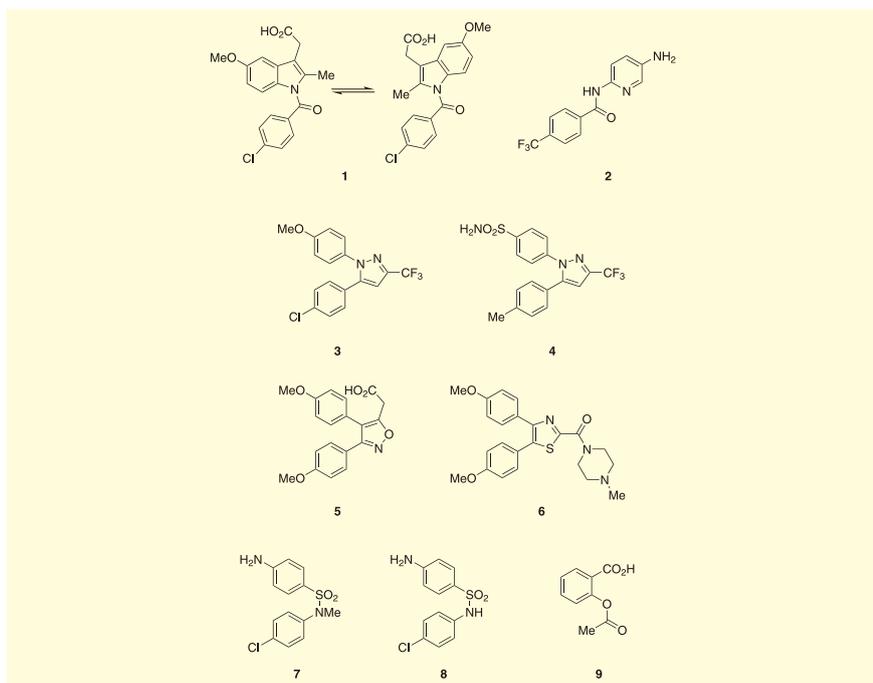


図 1. 既知の NSAIDs と著者らの開発した COX-1 阻害剤 TFAP (2), ZXX2-77 (7) および ZXX2-79 (8) の分子構造

のである。

とは言え、COX-1 選択的阻害剤については、その偏見もありその報告例は非常に少ない。COX-1 選択的阻害剤の代表的なものには SC-560 (3) が有名であるが、日本にて鎮痛剤として臨床応用されている mofezolac (5)¹²⁾、また抗血小板凝集剤を目指して開発された FR122047 (6)¹³⁾ などくらいしかない (図 1)。しかしながら後者二つは、COX-2 選択的阻害剤が注目される以前から開発された化合物であり、COX-1 阻害剤として開発された化合物では無い。なおこれらはいずれも強い鎮痛効果を示すことが報告されている。鎮痛薬として臨床応用されている mofezolac (5) の胃腸障害報告率は低いと報告されている¹⁴⁾。この事実から、COX-1 選択的阻害が胃腸障害の元凶というのは難しいと判断出来る。むしろ COX-1 と COX-2 の両方を阻害することで、胃粘膜保護に必要なプロスタグランジン量が不足し胃潰瘍形成するという説明の方が自然である。

3 新規 COX-1 阻害剤の分子設計

COX-1 選択的阻害剤が、胃潰瘍形成の無い鎮痛物質として魅力的だと考えられたことから、著者らはその魅力を、自ら開発した化合物をもって示すことを考えた。著者らのグループは、新規

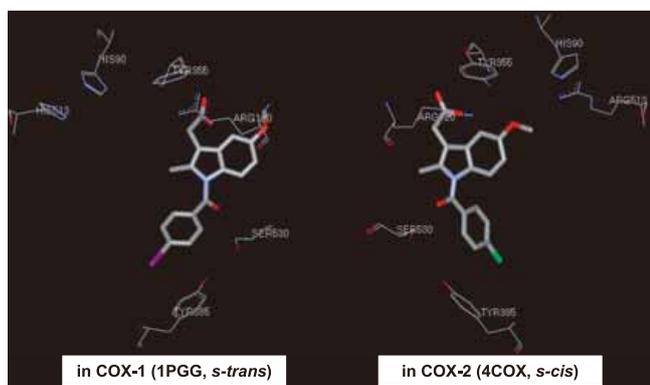


図 2. indomethacin (1) の COX-1 (左) および COX-2 (右) 内における立体構造 (各文献より引用)

な COX-1 阻害剤として、既知の COX-1 阻害剤である SC-560 (3)、mofezolac (5) および FR122047 (6) のように、2つの芳香環が互いに向かい合わせで存在することが知られるベンゼンスルホンアニリドを骨格とする化合物 ZXX2-77 (7)¹⁵⁾ および ZXX2-79 (8)¹⁶⁾ をこれまでに報告している (図 1)。ZXX2-77 (7) は *in vitro* における COX-1 阻害活性は認められたものの、経口吸収の悪さ故その鎮痛効果は弱いものであった。そのため新たな化合物デザインを行う必要が生じた。分子設計において着目したのが、COX-2 より COX-1 に対し顕著な阻害活性を示す indomethacin (1) である。indomethacin (1) は強力な消炎鎮痛作用を示すものの、顕著な胃潰瘍形成が認められる⁵⁾。その理由はいずれの COX を強力に阻害することで説明できる。一方で indomethacin (1) は、各 COX 内において異なるコンフォメーションで存在することも知られている。indomethacin (1) は、COX-1 の基質結合部位において分子内の二つのベンゼン環がアミド結合に対し *s-trans* および *s-cis* で、COX-2 内では *s-cis* で存在することが報告されている (図 2)^{17,18)}。そこで indomethacin (1) の COX-1 内における *s-trans* 構造を模倣すべく、溶液中および結晶中で *s-trans* 構造で存在することが知られる benzamide^{19,20)} を骨格とする化合物をデザイ

ンし、合成した (図 3)。

4 合成アミド化合物の各 COX 阻害活性

合成化合物の COX 阻害活性は市販のキットを用いて測定した。その結果、アミノ基およびトリフルオロメチル基を有する化合物に COX-1 阻害活性を見出した。さらにベンゼン環の一部をピリジン環に変換したところ、COX-1 IC₅₀ = 0.80 μM, COX-2 IC₅₀ = 210 μM を与える TFAP (2) : *N*-(5-Amino-2-pyridinyl)-4-(trifluoromethyl)benzamide を見出した。

5 新規 COX-1 阻害剤 TFAP の *in vivo* 試験

TFAP (2) の COX-1 に対する IC₅₀ は、indomethacin (1) のそれに比べ弱いものの、COX-2 阻害に要する IC₅₀ の大きさゆえ *in vitro* における COX-1 選択性の高さもあり、*in vivo* における COX-1 選択的阻害活性を得るには TFAP (2) は適当な化合物と予想された。そこで本化合物をラットに経口投与させた場合の C_{max} を測定したところ、30 mg/kg 時において 12 μM であり、*in vivo* における COX-1 選択的阻害活性が十分期待出来ることが確認された (データ非掲載)。

図 4 には、各化合物の経口投与 4 時間後に開腹し得られた胃の全容写真 a~d および生じた胃潰瘍の大きさを実顕微鏡を通じて測定しその和を gas-

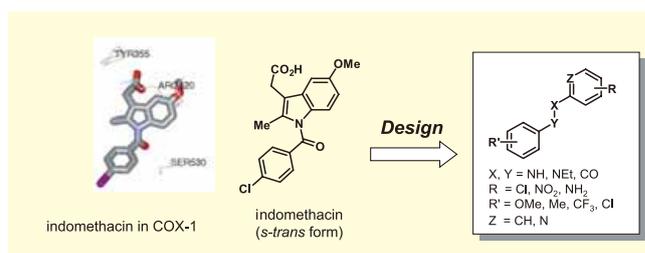


図 3. indomethacin (1) をリードとした COX-1 選択的阻害剤の分子設計戦略 (文献 6 より引用)

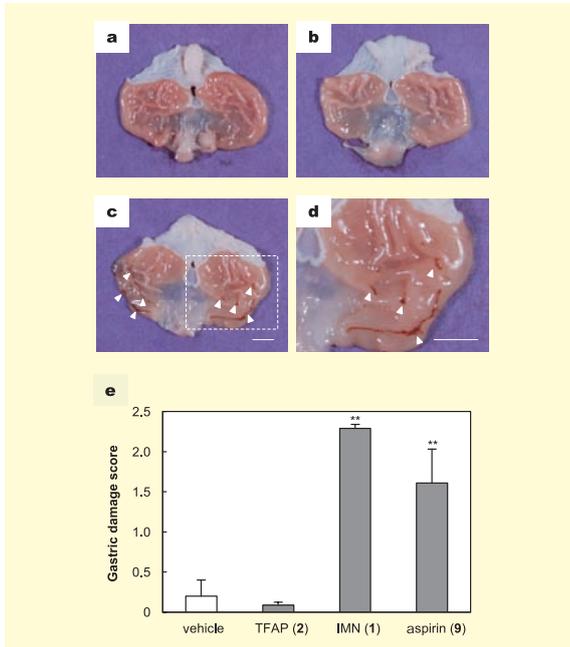


図4. ラットを用いた胃潰瘍形成試験
a-d) 胃の全容写真；a) vehicle, b) TFAP (2) 300 mg/kg *p.o.*, c) indomethacin (1) 10 mg/kg *p.o.*, d) cの拡大. e) Gastric damage score (詳細は本文に記載). TFAP (2), IMN = indomethacin (1), aspirin (9) の経口投与量は、300, 10, 30 mg/kg. 平均値 + SEM, n = 4/group, ** $p < 0.01$ versus vehicle. (文献6より引用)

tric damage scoreとして表示したデータ e を示している。図4c, dに示すように、indomethacin (1) は10 mg/kg で明らかな胃潰瘍形成が認められた。写真は示していないがaspirin (9) にも有意な胃潰瘍形成が認められた。一方、TFAP(2) では、COX-1阻害に必要な有効血中濃度以上が期待出来る300 mg/kgの投与量においても、胃潰瘍形成が認められなかった。さらに毎日30 mg/kgで連続投与を一週間続けたも、胃潰瘍形成は認められなかった。これらのことから、Wallaceらの報告同様、COX-1阻害剤が胃潰瘍形成を生じないと改めて結論出来る。

前述した通り、COX-1選択性の高いNSAIDsに鎮痛効果が報告されているので、TFAP (2) の鎮痛作用について、マウスを用いた酢酸ライジング試験により調べた。図5aには30 mg/kg投与時の結果を示すが、コン

トロール群と比較して有意にライジング回数が抑制され、その鎮痛作用が示唆された。また、ホルマリン疼痛試験においても30 mg/kg投与時に、明らかな疼痛抑制作用が認められた (図5b)。

6 COX-1 阻害剤の抗がん剤としての可能性

著者らはCOX-1阻害の有用性を提示すべく、既知のCOX-1阻害に関する情報整理に加え、新規なCOX-1選択的阻害活性を有するTFAP (2) を開発し、COX-1選択的阻害剤が胃潰瘍形成なく顕著な鎮痛作用を見られることを示した。近年、末期がん患者の疼痛緩和ケアがWHOにおいて推奨されている²¹⁾。その目的において利用が広がりつつあるacetaminophen は、その分子標的がCOX-1の亜種である

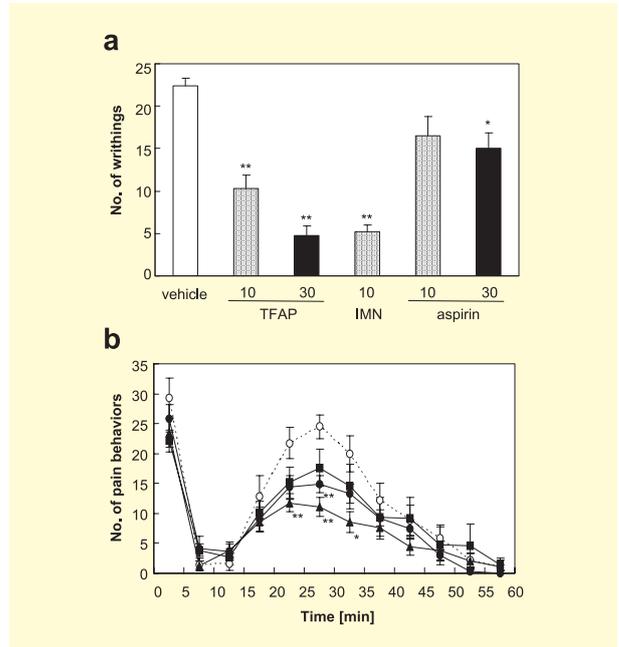


図5. TFAP (2) の鎮痛効果試験
a) マウス酢酸ライジング試験。(平均値 + SEM, n = 10-11/group) b) ラットホルマリン試験；○ : vehicle, ▲ : indomethacin 30 mg/kg *p.o.*, ■ : aspirin 30 mg/kg *p.o.*, ● : TFAP 30 mg/kg *p.o.* (平均値 ± SEM, n = 8/group) . * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus vehicle. (文献6より引用)

COX-3であること²²⁾、またCOX-1阻害活性の高いNSAIDsに顕著なCOX-3阻害活性が見られる傾向が報告されている²³⁾。またmofezolac (5) による、大腸がん¹⁴⁾ や卵巣がん²⁴⁾ に対する抗腫瘍活性並びにがん化学予防活性についても報告されている。さらに、COX-1阻害剤による血管新生抑制作用の報告もあることから²⁵⁾、COX-1阻害剤は、鎮痛剤としての効果に加え、抗がん剤の可能性が期待された。簡便な血管新生抑制作用試験法として有精卵を用いたCAM試験が知られる²⁶⁾。そこで、TFAP (2) についてCAM試験による血管新生抑制作用を調べた。その結果、ポジティブコントロールとして*all-trans* retinoic acidが100 ng/CAMで有為な血管新生抑制作用を示したように、TFAP (2) についても300 ng/CAMでの血管新生抑制作用が認められた(図6)²⁷⁾。

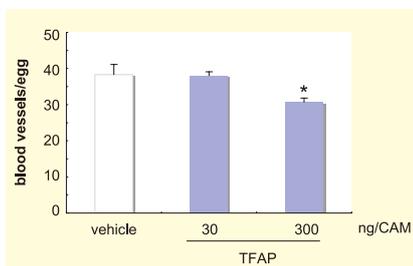


図6. CAM法によるTFAP (2) の血管新生抑制試験
平均値 + SEM, n = 6/group, **p* < 0.05 versus vehicle.

7 COX-1 阻害剤の今後の展望

このようにCOX-1阻害剤は胃腸障害のない新たな鎮痛剤、また抗がん剤としての期待がもたれる。ところで女性の「生理痛」は、著者のように男性だと気づきにくいものであるが、見過ごすことが出来ない問題かもしれない。興味深いことに、女性ホルモンであるestradiolによりCOX-1発現亢進が報告されている²⁸⁾。今後、COX-1阻害剤が新たな生理痛止めになるか検討していきたい。

以上、著者らはCOX-1阻害剤について、著者らの開発したCOX-1阻害剤TFAP (2) 等も含めて紹介した。COX-1阻害が果たして「悪の枢軸か？」

の問いに対しては、Noとってよいのではないだろうか。

【謝 辞】

本研究は、研究環境をご提供いただきました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬分子設計学教室・佐々木健二教授、共同研究者の杉本幸雄准教授、田井章博准教授（現県立広島大学）、鄭曉霞博士、小田博之修士、原田隼学士ら、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬分子設計学教室の卒業生・在学生の協力により行うことが出来ました。この場を借りて、心からお礼申し上げます。

【参考文献】

- 1) Davis, N. M. and Wallace, J. L. : *J. Gastroenterol.*, **32**, 127-133 (1997).
- 2) Richy, F. et al. : *Ann. Rheum. Dis.*, **63**, 759-766 (2004).
- 3) Kargman, S. et al. : *Gastroenterology*, **111**, 445-454 (1996).
- 4) Vane, J. R., Bakhle, Y. S. and Botting, R. M. : *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **38**, 97-120 (1998).
- 5) Del Soldato, P. and Foschi, D. : *Gastroenterology*, **93**, 1149-1150 (1987).
- 6) Kakuta, H. et al. : *J. Med. Chem.*, **51**, 2400-2411 (2008).
- 7) Warner, T. D. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 7563-7568 (1999).
- 8) Wallace, J. L., McKnight, W., Reuter, B. K. and Vergnolle, N. : *Gastroenterology*, **119**, 706-714 (2000).
- 9) Smith, C. J. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- 10) Penning, T. D. et al. : *J. Med. Chem.*, **40**, 1347-1365 (1997).
- 11) Tanaka, A., Hase, S., Miyazawa, T. and Takeuchi, K. : *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **300**, 754-761 (2002).
- 12) Yamawaki, I. and Ogawa, K. : *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 3142-3146 (1988).
- 13) Ochi, T., Motoyama, Y. and Goto, T. : *Eur. J. Pharmacol.*, **391**, 49-54 (2000).
- 14) Kitamura, T. et al. : *Carcinogenesis*, **23**, 1463-1466 (2002).
- 15) Zheng, X. et al. : *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 1014-1021 (2007). [Erratum in: *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 3299-3300 (2007).]
- 16) Zheng, X. et al. : *J. Pharm. Sci.*, **97**, 5446-5452 (2008).
- 17) Loll, P. J., Picot, D., Ekabo, O. and Garavito, R. M. : *Biochemistry*, **35**, 7330-7340 (1996).
- 18) Kurumbail, R. G. et al. : *Nature*, **384**, 644-648 (1996).
- 19) Kashino, S., Ito, K. and Haisa, M. : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **52**, 365-369 (1979).
- 20) Itai, A. et al. : *Tetrahedron Lett.*, **30**, 6177-6180 (1989).
- 21) World Health Organization. : "Cancer Pain Relief, Second Edition.", World Health Organization, Geneva (1996).
- 22) Chandrasekharan, N. V. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 13926-13931 (2002).
- 23) Stockler, M., Vardy, J., Pillai, A. and Warr, D. : *J. Clin. Oncol.*, **22**, 3389-3394 (2004).
- 24) Daikoku, T. et al. : *Cancer Res.*, **65**, 3735-3744 (2005).
- 25) Sano, H., Noguchi, T., Miyajima, A., Hashimoto, Y. and Miyachi, H. : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 3068-3072 (2006).
- 26) Ribatti, D., Nico, B., Vacca, A. and Presta, M. : *Nat. Protoc.*, **1**, 85-91 (2006).
- 27) 投稿準備中
- 28) Jun, S. S., Chen, Z., Pace, M. C. and Shaul, P. W. : *J. Clin. Invest.*, **102**, 176-183 (1998).

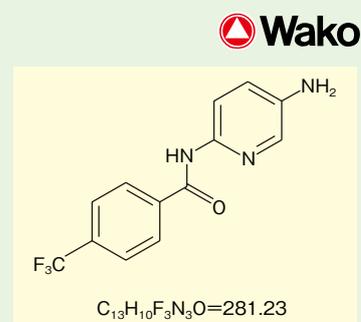
新規COX-1阻害剤

TFAP [N-(5-アミノ-2-ピリジニル)-4-(トリフルオロメチル)ベンズアミド]

TFAPは、新規のCOX-1阻害剤です。ラット経口投与時に、大量投与しても胃腸へのダメージがほとんどありません。また、アスピリンよりも強い鎮痛作用を示します。

COXは胃潰瘍などの胃腸粘膜炎症の誘発に関与していると言われており、現在、COX-1、COX-2の機能研究が盛んに行われています。非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs)、胃腸粘膜の炎症誘発メカニズムの研究にご利用下さい。

COX-1 : IC₅₀ = 0.80 μmol/ℓ、COX-2 : IC₅₀ = 210 μmol/ℓ



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
NEW 205-17381	TFAP [N-(5-Amino-2-pyridinyl)-4-(trifluoromethyl)benzamide]	細胞生物学用	10mg	20,000

はじめに

生命の恒常性を保つためにタンパク質の分解調節は大切であるが、最近注目されているのがオートファジー（自食作用）の役割とその調節機構である。1990年代に酵母で始まったオートファジーを調節する遺伝子の解析が高等動物に広がり、選択的に特定のタンパク質を分解する新しい仕組みが明らかになりつつある。ユビキチン結合タンパク質の分解がプロテアソームだけでなくオートファジー/リソソームの系でも行われることが明らかになり、ユビキチン結合能を持つSequestosome1 (SQSTM1) がオートファゴソームの形成に必須のLC3/Atg8と結合することが明らかになり、オートファジーを介するタンパク質分解の調節因子としてSQSTM1が注目されている^{1,2)}。SQSTM1はp62（ヒト）³⁾、A170（マウス）⁴⁾あるいはZIP（ラット）⁵⁾などと呼ばれているが、本稿では統一呼称としてSQSTM1を使用する。SQSTM1は、それぞれ発見の経緯が異なっており、その分子特性や機能に関して種々の異なる側面があることが初期の諸研究から推測できるが（図1）、オートファジーと生体防御あるいは恒常性維持をキーワードに謎を読み解くと大切な生理機能が見えてくるのではないかと考えている。

SQSTM1発見の経緯

p62はチロシンキナーゼp56lckのSH2ドメインに結合する新規リガンドとしてヒトT細胞でShin J博士らの研究グループによって最初に見つかり、HeLa細胞から精製したp62タンパク質のアミノ酸配列を用いてクローン化され1996年に報告された³⁾。構造の特徴は、Znフィンガー（ZZ型）、G-タンパク質結合配列、PESTモチーフとSer/Thrキナーゼによる複数のリン酸化が予想される配列を持っている（図2）。Shinらは、次にp62のC末80アミノ酸残基部分にユビキチンが非共有結合で結合するUBAドメインを見出し、ユビキチンを介するタンパク質分解に関与することを推測したが、プロテアソームとは異なる系に関与することをすでに示唆している⁶⁾。興味深いことにSQSTM1のC末部分112残基は、ヒト、マウス、ラットで完全に保存されており、ユビキチンとの相互作用がSQSTM1の機能に非常に大切であることを示唆している。Shin氏は細胞内のユビキチン化したタンパク質を一時的に貯蔵しておく仮想的な構造体としてSequestosomeと言う語句を提案した⁶⁾。その後、ヒト遺伝子構造の解析が進み、p62遺伝子の表記としてSequestosome1という名称が与えられた。Sequestosomeに含まれる1番目

のタンパク質と言った意味であり、ファミリータンパク質が他にあるわけではない。

一方、我々はマウス腹腔マクロファージにおいて酸化ストレスで誘導されるタンパク質の一つとしてA170を見出しクローン化し1996年に報告した⁴⁾。A170は、442アミノ酸から構成されグルタミン酸、プロリン含量が多くSDS-ポリアクリルアミド電気泳動では見かけの分子サイズ（約60kDa）は、計算値（48kDa）よりかなり大きくなり、また分子サイズがゲルの堅さにより変動すること、さらにアミノ酸配列から分子機能を類推しにくかったのでcDNAクローンの番号で呼ぶことにした。A170の酸化ストレス剤による発現誘導は転写因子Nrf2に依存しているが⁸⁾、Nrf2は親電子物質を解毒する酵素系の主要な発現制御因子であり、種々のストレスから生体を守る防御系として知られている。Nrf2は抗酸化、抗炎症に働くことから、A170の生理的な役割も酸化障害や炎症反応を抑制することではないかと思われるが、具体的な機能の証明はこれからである。

PKC ζ （非特異的PKCの一つ）は細胞分化、増殖やアポトーシスのシグナル伝達に関与しているが、ZIP（zeta-interacting protein）はその制御に関連する因子としてラットの中樞で1997年に見つかった⁵⁾。PKC ζ とZIP

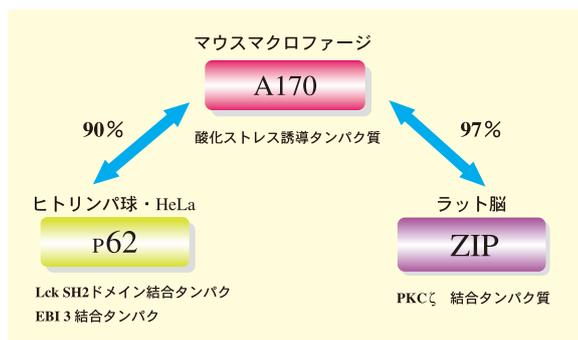


図1. 種間SQSTM1の構造類似性と見つかったときの性質

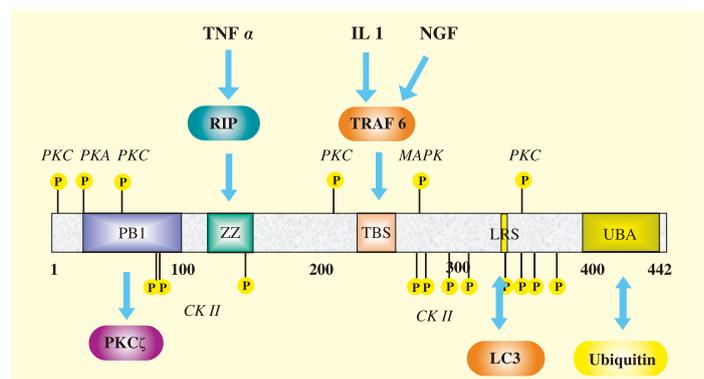


図2. SQSTM1(A170)のドメイン構造、リン酸化予想部位と相互作用するタンパク質

は、TNF α 、IL1、NGFなどの受容体を介するシグナル伝達に関与し、IKK β をリン酸化して活性化し、結果として転写因子NF- κ Bを活性化するシグナル伝達に関与している(図2)⁹⁾。PKC ζ -ZIPは、その他に、膜電圧依存性のKチャンネルの β サブユニットのリン酸化にも関与している¹⁰⁾。 β サブユニットのリン酸化によりKチャンネルの活性阻害が起こる。また、スプライシングバリエントZIP2、ZIP3の存在も報告されている。

生体防御におけるSQSTM1の役割

種々の疾患において細胞中にはいろいろなタンパク質の凝集体が蓄積する。SQSTM1は、細胞内で形成されたユビキチン化タンパク質と相互作用し、そのような凝集体の形成に関与している。肝臓の疾患では、マロリー体が形成され、ユビキチン化したケラチン、それにHSP70、HSP25などとSQSTM1が凝集体を形成する¹¹⁾。神経疾患のアルツハイマー病やパーキンソン病等において形成される凝集体にもSQSTM1が含まれている。このようなタンパク質の凝集体の形成には、SQSTM1のユビキチン結合活性が関与しており、細胞内タンパク質分解系の機能が低下したときに異常タンパク質を会合させて細胞毒性を弱めていると考えられている。

細胞に感染した細菌などを補足し除去する自然免疫ではオートファジーの働きが必須であり、SQSTM1の関与も予想される。また、SQSTM1がRNAウイルスの感染防御に働くことを示唆する報告がこれまでにある。Epstein-Barrウイルスによる感染時にB細胞の小胞に誘導される防御機能を持つと考えられるサイトカイン受容体ファミリー類似タンパク質(EBI3)にSQSTM1が結合することが知られている¹²⁾。また、ショウジョウバエでシグマウイルス感染により誘導される免疫

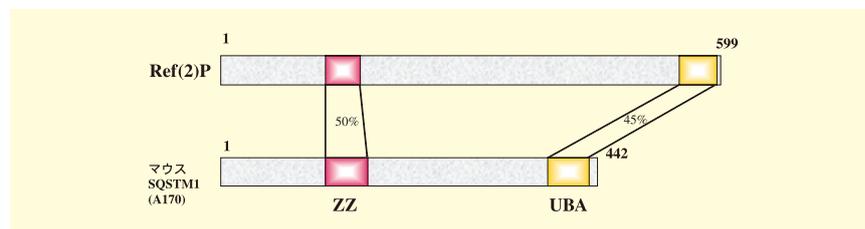


図3. ショウジョウバエのSQSTM1ホモログRef(2)PとSQSTM1の構造類似性

性遺伝子(refractory gene)産物の一つであるRef(2)Pタンパク質¹³⁾はSQSTM1と、Znフィンガードメイン(ZZ)とC末UBAドメインについて構造類似性があり(図3)、このタンパク質はPKC ζ 様のキナーゼと結合しこのウイルスの複製を抑制する興味深い作用がある。また、最近の報告ではRef(2)PはSQSTM1同様にユビキチン化タンパク質と凝集体を形成する¹⁴⁾。ウイルスなどの感染防御におけるオートファジー/SQSTM1系の関与は興味深い。

SQSTM1の変異と欠損の表現型

SQSTM1は多くの組織に発現しており、全身の変異は思わぬ疾患をもたらす。ヒトSQSTM1の遺伝子はパジェット病関連因子の一つとして同定された。パジェット病は骨代謝の異常で、高齢になり症状が顕著に現れてくることが知られている。西洋には患者が多く、作曲家ベートーヴェンの難聴はパジェット病に起因すると言われていた。いくつかの家系でSQSTM1遺伝子の変異が同定されているが、いずれもC末UBAドメイン内のアミノ酸置換、あるいは部分的な欠失によりユビキチンとの相互作用が阻害されて生じていることが予想される¹⁵⁾。このような変異では、UBA以外の部分を介する他のタンパク質との相互作用は機能している可能性がある。SQSTM1はユビキチン化タンパク質とともに分解されると考え、それがシグナルのOFFに関与しているのであればUBA

の機能欠失はシグナル伝達の持続的な亢進を引き起こす可能性があり、完全欠失とは異なる表現型が予想される。

SQSTM1を欠損したマウスの外見は正常で繁殖能力もある。ただし、不思議なことにこのKOマウスは肥満症を呈する。先行研究では、肥満の原因として脂肪細胞への分化が亢進するためであるとしその理由はMAPキナーゼERK活性亢進が原因であると提案している¹⁵⁾。我々は、肥満の原因は過食であり、中枢神経系の異常がその背景にあると考えている。もし、この現象が中枢におけるオートファジー不全により引き起こされているのであれば大変興味深い。いずれにしてもSQSTM1の目に見える生理機能は、肥満や肥満に関連する生活習慣病の発症を抑制することであり、このKOマウスは肥満形成と生活習慣病発症モデルとして大変有用である。

今後の展望

SQSTM1の分子機能及び生理機能についてはまだまだ不明なことが多い。SQSTM1は、ストレスなどにより誘導されると同時に条件により発現が抑制されるタンパク質であり、細胞内局在の変化もあり変幻自在である。SQSTM1は種々のタンパク質と相互作用する性質があり、多機能タンパク質ではないかという考えもあるが、ある視点からのみ機能を追求すると誤った結論を招きかねない(図4)。SQSTM1がScaffoldタンパク質であるという表現も使われている。Scaffoldの意味は建築現場の足場の意味であり、

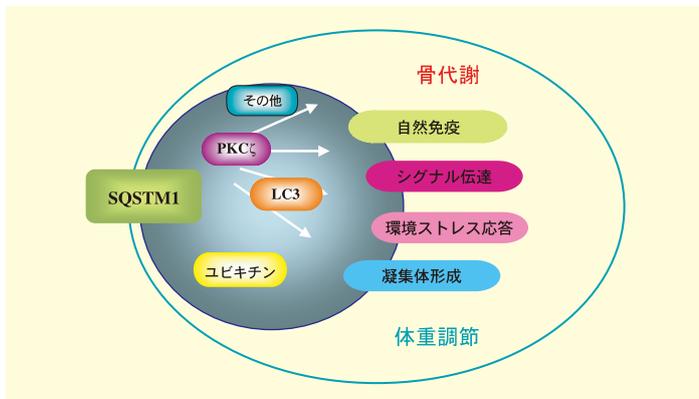


図4. SQSTM1は種々の因子と相互作用して凝集体形成や生体応答に関与するが個体レベルでは骨代謝や体重調節に関与する

キナーゼと基質を引き合わせる足場の意味で使われているようだ。古くはファージ頭部前駆体内部に存在し、DNA鎖が頭部に収納され頭部が完成する過程で消えてなくなるタンパク質のことをScaffoldingタンパク質と呼んでいたが少し意味合いが異なる。オートファジーは多くの生理機能に関与しているが、SQSTM1とLC3の相互作用を介して分解の標的となるタンパク質の同定を進めることができればその役割が一つずつ明らかになっていくと考えられる。いずれにしても、今後SQSTM1の研究を通してオートファジー研究がますます進展しこれまでのSQSTM1に関する種々の疑問が解けて、タンパク質の分解制御を通して細胞の恒常性を保つ巧妙な仕組みが明らかになっていくことを期待したい。

【参考文献】

1) Komatsu, M., Waguri, S., Koike, M., Sou, Y., Ueno, T., Hara, T., Mizushima, N., Iwata, J., Ezaki, J., Murata, S., Hamazaki, J., Nishito, Y., Iemura, S., Natsume, T., Yanagawa, T., Uwayama, J., Warabi, E., Yoshida, H., Ishii, T., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Yue, Z., Uchiyama, Y., Kominami, E. and Tanaka, K. :

“Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic body formation in autophagy-deficient mice”, *Cell*, **131**, 1149-1163 (2007).
 2) Pankiv, S., Clausen, T. H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J. A., Outzen, H., Overvatn, A., Bjorkov, G. and Johansen, T. : “p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy”, *J. Biol. Chem.*, **282**, 24131-24145 (2007).
 3) Joung, I., Strominger, J. L. and Shin, J. : “Molecular cloning of a phosphotyrosine-independent ligand of the p56lck SH2 domain”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 5991-5995 (1996).
 4) Ishii, T., Yanagawa, T., Kawane, T., Yuki, K., Seita, J., Yoshida, H. and Bannai, S. : “Murine peritoneal macrophages induce a novel 60-kDa protein with structural similarity to a tyrosine kinase p56^{lck}-associated protein in response to oxidative stress”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **226**, 456-460 (1996).
 5) Puls, A., Schmidt, S., Grawe, F. and Stabel, S. : “Interaction of protein kinase C zeta with ZIP, a novel protein kinase C-binding protein”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 6191-6196 (1997).
 6) Shin, J. : “p62 and the sequestosome, a novel mechanism for protein metabolism”, *Arch. Pharm. Res.*, **21**, 629-633 (1998).
 7) Vadlamudi, R. K., Joung, I., Strominger, J. L. and Shin, J. : “p62, a phosphotyrosine-independent ligand of the SH2 domain of p56lck, belongs to a new class of ubiquitin-binding proteins”, *J. Biol. Chem.*, **271**, 20235-20237 (1996).
 8) Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Katoh, Y., Bannai, S. and Yamamoto, M. : “Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative

stress-inducible genes in macrophages”, *J. Biol. Chem.*, **275**, 16023-16029 (2000).
 9) Moscat, J., Diaz-Meco, M. T. and Wooten, M. W. : “Signal integration and diversification through the p62 scaffold protein”, *TRENDS Biochem. Sci.*, **32**, 95-100 (2007).
 10) Gong, J., Xu, J., Bezanilla, M., van Huizen, R., Derin, R. and Li, M. : “Differential stimulation of PKC phosphorylation of potassium channels by ZIP1 and ZIP2”, *Science*, **285**, 1565-1569 (1999).
 11) Zatloukal, K., Stumtner, C., Fuchsichler, A., Heid, H., Schnoelzer, M., Kenner, L., Kleinert, R., Prinz, M., Aguzzi, A. and Denk, H. : “p62 is a common component of cytoplasmic inclusions in protein aggregation diseases”, *Am. J. Pathol.*, **160**, 255-263 (2002).
 12) Devergne, O., Hummel, M., Koeppen, H., Beau, M. M. L., Nathanson, E. C., Kieff, E. and Birkenbach, M. : “A novel interleukin-12 p40-related protein induced by latent Epstein-Barr virus infection in B lymphocytes”, *J. Virol.*, **70**, 1143-1153 (1996).
 13) Avila, A., Silverman, N., Diaz-Meco, M. T. and Moscat, J. : “The Drosophila atypical protein kinase C-ref(2)p complex constitutes a conserved module for signaling in the toll pathway”, *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 8787-8795 (2002).
 14) Nezis, I. P., Simonsen, A., Sagona, A. P., Finley, K., Gaumer, S., Contamine, D., Rusten, T. E., Stenmark, K. and Brech, A. : “Ref(2)P, the Drosophila melanogaster homologue of mammalian p62, is required for the formation of protein aggregates in adult brain”, *J. Cell Biol.*, **180**, 1065-1071 (2008).
 15) Layfield, R. and Hocking, L. J. : “SQSTM1 and Paget’s disease of bone”, *Calcif. Tissue Int.*, **75**, 347-357 (2004).
 16) Rodriguez, A., Duran, A., Selloum, M., Champy, M. F., Diez-Guerra, F. J., Flores, J. M., Serrano, M., Auwerx, J., Diaz-Meco, M. T. and Moscat, J. : “Mature-onset obesity and insulin resistance in mice deficient in the signaling adapter p62”, *Cell Metab.*, **3**, 211-222 (2006).

PKCζ
 プロテインキナーゼCファミリーメンバーの一つで、カルシウムにもジアシルグリセロールにも依存しない非典型的 (atypical) Cキナーゼに属し、ζ(ゼータ)の他にι/λ(イオタ/ラムダ)が知られている。

オートファジー研究に!

抗SQSTM1/A170/p62, ウサギ

本品は、SQSTM1/A170/p62のウサギ抗血清で、ウエスタンブロット、免疫組織染色、免疫蛍光染色に使用できます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-22141	Anti SQSTM1/A170/p62, Rabbit	免疫化学用	100 μl	25,000

詳細は当社ホームページ (<http://wako-chem.co.jp/siyaku/info/men/article/AntiSQSTM1.htm>) をご参照下さい。



東京大学大学院薬学系研究科 富田 泰輔

第24回Wakoワークショップ「オートファジー：細胞・個体機能の新たな制御機構—基礎から臨床へ」が、2008年11月6日に全電通ホールにて開催されました。出芽酵母の研究を端緒とするオートファジー研究は、近年マウス・ヒトにその広がりを見せ、新たな基礎生物学分野を切り拓いたほか、最近では様々な疾患に関連することが指摘され始めています。本ワークショップにおいては、このオートファジーに関して基礎研究から様々な応用研究まで、8人の先生が大変興味深い御講演をされました。

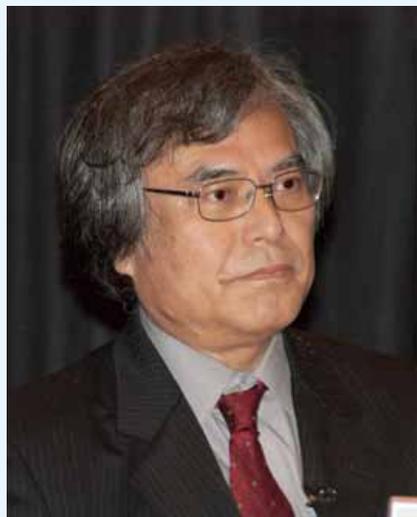
はじめに、本ワークショップを総合企画されました順天堂大学大学院・医学系研究科の内山安男先生より御挨拶があったのち、最初の講演者である基礎生物学研究所の大隅良典教授が「酵母に始まったオートファジーの分子メカニズムの研究」というタイトルで講演されました。いうまでもなく大隅先生は酵母を用いたオートファジーの分子遺伝学的研究を確立され、この分野を初めに世の中に知らしめるきっかけを作られた先生です。その御講演内容も1960年代に電子顕微鏡観察の記載から始まり、酵母を用いたATG遺伝子群の同定へと、オートファジー研究の歴史を感じさせるものでした。その上で、昨今のオートファジー研究における大

きな疑問点として、1) オートファジーの誘導に関する制御機構、2) 膜動態のダイナミクス、3) オートファジーによる分解の選択性、を挙げられ、これらの疑問点を解決するべく大隅研究室で進められている各ATG遺伝子産物の機能解析の最先端に関して非常にわかりやすく、解説していただきました。特に膜動態の観点から、液胞近傍に存在するPAS(Preautophagosomal structure)の重要性に始まり、VPS34(ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ)複合体によるPI3Pの産生とその局在化、ATG8のホスファチジルエタノールアミン化と膜脂質の融合の関係を詳しく解説され、オートファジーが生体内でも非常に特異な膜系を用いたシステムであるということを示されました。また選択的なオートファジーという内容でミトコンドリアの分解に関わるmitophagyについてもご紹介され、まだまだ新しい分野を築いていくという気概を感じ、大変感銘を受けました。

引き続き東京医科歯科大学・歯学総合研究科の水島昇先生が、「オートファジーによるタンパク質代謝の生理的役割」というタイトルで、哺乳類におけるオートファジー関連遺伝子の機能解析についてご紹介されました。水島先生は大隅先生の元で酵母を用いたATG遺伝子の機能解析を始めたの

ち、哺乳類でのオートファジーの意義について解析されています。特にオートファジー「不能」にした状態を解析するためにAtg5ノックアウト(KO)マウスを、そしてオートファジー「プロセス」を可視化するためにLC3-GFPトランスジェニック(tg)マウスを用い、マウスの様々な臓器において、オートファジーが重要な役割を担っていることを報告されてきました。本シンポジウムでは特に最近報告された、受精卵におけるオートファジーについて解説されました。そして受精卵のオートファジーは発生に必須なシステムであり、生物が「生まれて初めて」体験するオートファジーであることを示されました。引き続き免疫システムにおけるオートファジーの役割についても報告され、内因性抗原を提示するためにオートファジーをうまく用いていること、その不全が自己免疫疾患につながる可能性について議論されました。さらに最近発見された、新たな哺乳類でのオートファジー関連分子hAtg14とUVRAGについて説明され、哺乳類でのAtg蛋白群が、様々な局面において多様な機能を担っていることが明らかになりつつあることを確信させる御講演でした。

次に東京都臨床医学総合研究所の小松雅明先生により、「選択的オートファジーとその生理的意義」というタイト



総合企画の内山安男先生



講演風景

Wako ワークショップ 見聞録

ルで御講演いただきました。小松先生はCre-loxPシステムを利用し、マウスの様々な臓器において特異的にオートファジー不全となるAtg7コンディショナルKOマウスを用いて解析され、それぞれの部位におけるオートファジーの重要性について解説されました。そしてオートファジー不全となった場合にp62が蓄積すること、このp62がオートファジー不全による細胞内封入体形成に必要であることを報告されました。そしてAtg7/p62ダブルコンディシ

ナルKOマウスではATG7コンディショナルKOマウスで見られる肝不全が抑制されることから、このp62がオートファジーにより代謝される現象と肝毒性の間になんらかの分子機構があることを予測され、p62結合蛋白として酸化ストレス防御機構に関わるKeap1を同定し、肝臓においてはp62がNrf2-Keap1経路に対して競合的に働くことを見出されました。この発見により、p62蓄積に伴う肝機能障害においてはNrf2の異常活性化が関与していること

を、最終的にAtg7/Nrf2ダブルコンディショナルKOマウスを用いて実証されました。一般的に細胞内封入体が生体に及ぼす影響については、毒性発揮とも防御とも言われており、その詳細な分子機構までは理解が進んでいないのが実情であるのに対し、このオートファジー不全によるp62の蓄積について丹念かつ詳細に検討された小松先生のお仕事は大変印象的でした。

午後の最初の御講演2演題は、具体的に疾患の発症プロセスに対してオートファジーがどのような分子機構により関与しているかという内容でした。初めに大阪大学大学院・医学系研究科の大津欣也先生により、「心臓におけるオートファジーの役割と病態への関与」という内容でお話いただきました。慢性心不全という社会的にも大きな問題となっている心疾患の発症機序において、オートファジーが重要な役割を担っているという御講演でした。心筋特異的なAtg5コンディショナルKOマウスを用い、オートファジーが定常状態では心筋細胞サイズや心臓の収縮力などの機能に必要であることを明らかにされました。また心臓に負荷がかかった場合には、このKOマウスでは心不全になりやすいこと、すなわちオートファジーに保護作用があることを示されました。実際に心不全患者の心筋において、オートファジーの活性化は重症度に反比例することを明らかにされ、オートファジーの活性化というストラテジーが新しい心不全治療法となる可能性を示されました。次に大阪大学・免疫学フロンティア研究センターの齊藤達哉先生により、「自然免疫応答とオートファジー」というタイトルで御講演いただきました。炎症性腸疾患であるクローン病の発症に関連が指摘されているAtg16L1遺伝子を欠損させたKOマウスを用い解析したところ、この変異マウス由来のマクロファージではグラム陰性菌エンドトキシンに過剰に反応し、大量のIL-1 β 、IL-18などの炎症性サイトカインを産生し強い炎症反応を引き起こす



大隈良典先生



水島昇先生



小松雅明先生



大津欣也先生



齊藤達哉先生



柚崎通介先生



木南英紀先生

第24回 Wako ワークショップ オートファジー 細胞・個体機能の新たな制御機構 - 基礎から臨床へ -

開催日：平成20年11月6日（木） 10：00～17：10
 開催場所：全電通ホール 東京都千代田区神田駿河台3-6
 総合企画：順天堂大学大学院 医学研究科神経機能構造学
 教授 内山 安男 先生
 オルガナイザー：順天堂大 木南 英紀 先生
 岡崎基礎生物研 大隅 良典 先生
 東医歯大院・医 水島 昇 先生
 順天堂大院・医 内山 安男 先生

講演プログラム

はじめに	順天堂大院・医	内山	安男
酵母に始まったオートファジーの分子メカニズムの研究	岡崎基礎生物研	大隅	良典
オートファジーによるタンパク質代謝の生理的役割	東医歯大院・医	水島	昇
選択的オートファジーとその生理的意義	臨床医学総研	小松	雅明
心臓におけるオートファジーの役割と病態への関与	阪大院・医	大津	欣也
自然免疫応答とオートファジー	阪大・免	齊藤	達哉
神経細胞におけるオートファジーの生理と病理	慶大・医	柚崎	通介
オートファジーと細胞死	順天堂大院・医	内山	安男
“オートファジー”を考える	順天堂大・医	木南	英紀
おわりに	順天堂大院・医	内山	安男

ことを示されました。その分子機構として、特にこの変異マウス由来マクロファージではToll like receptor (TLR) 4の活性化に引き続き起こるK⁺イオンの流出や活性酸素種の産生に異常がみられ、最終的にIL-1 β の分泌に関与する「インフラマソーム」形成が行進していること、さらにAtg7ノックアウトマウス由来マクロファージにおいても同様の現象が観察されることなどから、オートファジーがインフラマソームを介した炎症性サイトカイン産生に対して抑制的に働いていること、オートファジーの異常がこれらサイトカイン産生に影響を与えることで最終的に炎症性腸炎に対して高感受性をもたらしていることを報告されました。両先生ともに最終的に生体においてオートファジーを時期・部位特異的に自在にコントロールするというのが新規創薬につながる可能性があるという御講演内容で、今後の人類の健康に必ず貢献するものであると確信しました。

続いての御講演「神経細胞におけるオートファジーの生理と病理」では、慶應義塾大学・医学部の柚崎通介先生が、1) 興奮性神経細胞死モデルの*lurcher*変異マウス、2) 小脳プルキンエ細胞特異的Atg5コンディショナルKOマウス、3) 極性輸送に関わるAP-4 KOマウス、の三種類の変異マウスの解析を通じ、神経系におけるオートファジーという観点で先生の研究を紹介されました。いずれのマウスにおいても神経細胞軸索のswellingが起こることとオートファジー経路の異常が指摘されていることから、神経細胞における膜動態の異常と蛋白蓄積が神経細胞死において何らかの役割を果たしている可能性について議論されました。分化が終了した神経細胞は分裂しないという特色の他に、様々な突起を伸張させ各神経細胞間シナプスで複雑なコミュニケーションを行うという性質から、非常に大きな膜成分をもっています。さらに可塑性という観点からもその膜脂質および膜蛋白のダイナミクスが重要と考

えられていますが、柚崎先生の御講演はそのダイナミクスにオートファジーが非常に重要な生理機能を果たし、その破綻が神経変性疾患につながる可能性を指摘され、新しい神経疾患創薬につながる可能性を感じさせました。

コーヒーブレイクのあとは、オートファジーされた分子が最終的に分解される細胞内小器官リソソームに関連した御講演でした。Atgに関する研究がオートファジーの側から蛋白分解という現象を見ているのに対して、オートファジーの最終ステップ、蛋白分解の場であるリソソームの側からオートファジーを考えていく、という観点で、本ワークショップのプログラムとしても最後を飾るにふさわしい内容でした。まず本ワークショップを総合企画された内山安男先生が、「オートファジーと細胞死」というタイトルで御講演されました。細胞が死ぬ、という病理学的に最も基本かつ重要な局面において、オートファジー・リソソームが細胞質に充満する形で死に至る2型細胞死と呼ばれる形態が古くから知られていることから、そのプロセスがどういった生理学・病理学的な意義を持つのかについて、培養細胞や虚血モデルを用いて検討された結果を御発表されました。特に様々な遺伝子改変マウスを用い、成体および新生児において異なる分子プロセスにより2型細胞死が惹起されている可能性を提起されました。また2型細胞死の下流はいわゆる細胞死実行酵素であるカスパーゼに非依存性の細胞死過程が存在すること、その過程においては特にリソソームに含まれるプロテアーゼであるカテプシン類がその中で大きな役割を担っている可能性について指摘されました。そしてワークショップの最後を飾ったのは、順天堂大学・医学部の木南英紀先生による「“オートファジー”を考える」という御講演でした。まずリソソームにおける分解酵素カテプシンに関わる研究の歴史とその多様性に触れられたのち、様々

なカテプシン・リソソーム関連疾患において蓄積物が観察され、その中には疾患特異的に蛋白、糖、脂質が蓄積するということから、リソソームに「共通性」のみならず「特異性」があるということを詳細に解説していただきました。またAtg7ノックアウトマウスを用い、絶食時に見られるアミノ酸バーストが肝臓におけるオートファジー、そして血糖値の維持に関連している可能性について指摘されました。このように各臓器特異的なオートファジーの生理的役割というのは、最終的にはリソソームの機能・特異性・組織化によって最終的に担われている、という両先生の御発表は、これまでオートファジー関連分子の側からしか見ていなかった自分の勉強不足を感じるとともに、単一の分子に注目するのではなく、Biological processすべてを俯瞰した視野を持つことの大切さを改めて実感させられました。

Atg分子群の発見以来、オートファジーはホットピックとして急激に注目を浴びており、そして実際にその生物学的重要性が様々な局面において明らかにされていますが、本ワークショップではその最先端の研究をなさっている諸先生方の御講演をまとめて拝聴させていただくことができました。またそれぞれの御講演が研究背景から現状、そして問題点に至るまで非常にわかりやすく解説していただいたので、大変勉強になりました。私ごとになりますが、自分の専門であるアルツハイマー病研究においても蓄積物の形成というのは「なぜ」形成され「どのように」病態に関わっていくのか、ということが重要であると考え研究を続けておりました。そういった経緯で内山先生に知己を得てこの見聞録を書かせていただくことになりました。大変感謝しております。また御講演された諸先生方と和光純薬の皆様は厚く御礼申し上げます。

はじめに

骨は生体の支持組織として体を支え、運動器官としての役割を担っていますが、その構成成分であるカルシウムの貯蔵庫としても機能を果たしています。この2つの機能を果たすために、骨組織は絶えず、骨形成と骨吸収を繰り返しています。まず骨形成は、間葉系細胞由来の『骨芽細胞』が担い、骨吸収は造血系細胞由来の『破骨細胞』が役割を果たしており、一連の骨のリモデリングにより、古い骨は新しい骨に置換され、全体として骨の強度を保っていると考えられています。しかし、このバランスが崩れ、破骨細胞の骨吸収が異常に亢進すると骨量が低下し、骨が折れやすくなる骨粗鬆症につながると考えられています。そのため、破骨細胞と骨芽細胞の代謝メカニズムを理解し、これらの疾患の治療や有効な薬剤の開発に役立てるため、さまざまな研究が行われております。『破骨細胞』のマーカー酵素の一つとして酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) が、『骨芽細胞』のマーカー酵素の一つとしてアルカリ性ホスファターゼ (ALP) が知られており、骨組織切片や培養細胞において、これらの酵素活性の存在部位

を調べることにより、細胞の分化状態や骨組織における破骨細胞、骨芽細胞の分布を知る事ができます。

染色の原理

本キットでは、酸性ホスファターゼの酵素活性の染色法として、ホスファターゼの基質であるりん酸ナフトールが加水分解されて生じるナフトールをジアゾニウム塩と結合させてアゾ色素を発生させる『アゾ色素法』を用いております。破骨細胞は強い酸性ホスファターゼ活性を有する細胞として知られ、血球系細胞の一つである hairy cell とともに酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性 (TRAP) が認められているため、酒石酸溶液を加えることで、他の細胞中に存在する酒石酸感受性酸性ホスファターゼの活性が抑えられ、破骨細胞の TRAP 活性存在部分に赤紫色の色素が発生します。

次に、本キットのアルカリ性ホスファターゼ (ALP) の酵素活性の染色法としては、アルカリホスファターゼ プレミックス基質液中の BCIP (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolylphosphate *p*-Toluidine Salt) が ALP により加水分解され NBT (Nitro-Blue Tetrazolium

Chloride) と反応して、ALP 活性存在部分に青～茶色がかかった青色のホルマザン色素が形成される方法を用いております。骨芽細胞は ALP を有する細胞の一つとして知られ、マーカー酵素として広く利用されてきました。

TRAP 活性を利用したアゾ色素法による TRAP 染色法は、破骨細胞の同定に用いられる方法として広く用いられていますが、使用のたびに緩衝液、基質、ジアゾニウム塩からなる発色基質液を調製し、フィルター濾過することが必要であり、調製した発色基質液は即日使い切りであり、保存が困難でした。しかし、本キットでは、凍結された3溶液を溶解、混合することで、簡便に必要な量の TRAP 染色液を調製することができます。また、TRAP 染色の後に、ALP 染色を行うことで TRAP/ALP の2重染色が可能です。

培養細胞系での使用例

本キットの酒石酸溶液、酸性ホスファターゼ基質液 A、酸性ホスファターゼ基質液 B を混合して TRAP 染色液を調製しました。Mouse leukemic monocyte 由来の細胞株であり破

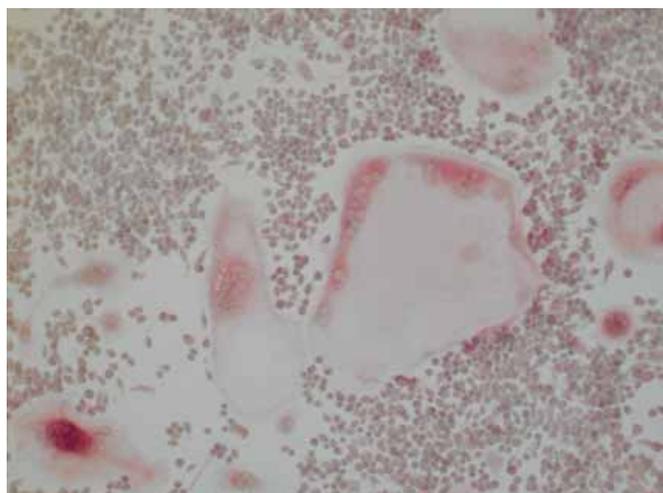


図1. RAW264細胞の酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 活性の染色
RAW264細胞 (Mouse leukemic monocyte由来の細胞株、破骨細胞様細胞に分化する) をsRANKL存在下で培養し、6日目にエタノール/アセトン (50:50 v/v) による透過処理を行った後、TRAP染色を行った。その結果、巨大化した多核の破骨細胞様細胞が赤紫色に染色された。

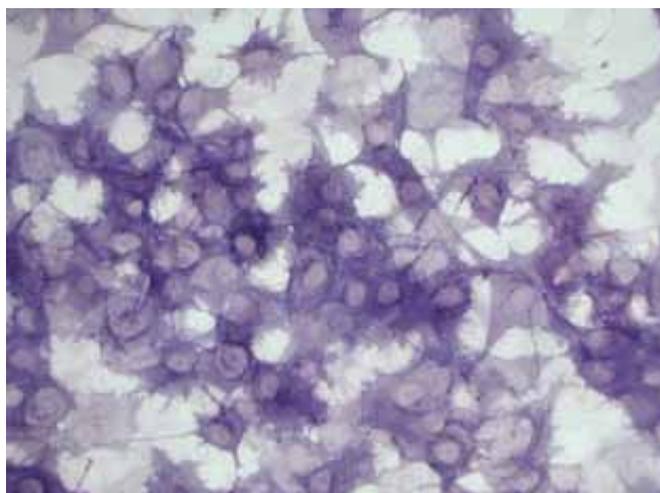


図2. MC3T3-E1細胞のアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 活性の染色
MC3T3-E1細胞 (Mouse calvaria由来の細胞株、骨芽細胞様細胞に分化する) をBMP-2存在下で培養し、7日目にエタノール/アセトン (50:50 v/v) による透過処理を行った後、ALP染色を行った。その結果、骨芽細胞様細胞に分化した細胞が青色に染色された。

骨細胞様細胞に分化することが知られているRAW264細胞を破骨細胞分化因子であるsRANKL (soluble receptor activator of NF-kappa B ligand) 存在下で培養し、破骨細胞様細胞に誘導し、TRAP染色液を用いて染色を行った結果、分化して巨大化した多核の破骨細胞様細胞が赤紫色に染色されました(図1)。

また、Mouse calvaria由来の細胞株であり、骨芽細胞様細胞に分化することが知られているMC3T3-E1細胞を、骨形成を促進するBMP-2 (bone morphogenetic protein-2) 存在下で培養し、本キットのアルカリホスファターゼプレミックス基質液を用いてALP染色を行った結果、骨芽細胞様細胞に分化した細胞が青色に染色されました(図2)。

骨組織切片での使用例

本キットを使用して、マウス脊椎骨の非脱灰骨GMA (Glycolmethacrylate) 樹脂包埋薄切標本(2ミクロン切片)に対し、本キットで調製したTRAP染色液、アルカリホスファターゼプレミックス基質液、核染色試薬を用いてTRAP染色、ALP染色及び核染色を行ったところ、TRAP染色液で破骨細胞が赤紫色に染色され、アルカ

リホスファターゼプレミックス基質液で骨芽細胞と成長板軟骨細胞が茶褐色に染色され、核染色液で各種細胞の核が青緑色にそれぞれ染色されました(図3)。

最後に

本TRAP/ALP染色キットは、培養細胞系、骨組織切片のいずれにおきま

しても、TRAP及びALPの酵素活性を利用して、破骨細胞や骨芽細胞の染色像を分別して観察する事が可能であり、細胞の分化状態や、骨組織における各細胞の分布を調べるツールになるものと考えられます。

【参考文献】

1) 河原 元：「硬組織標本作製法」, 検査と技術, 29, 1169 (2001) .

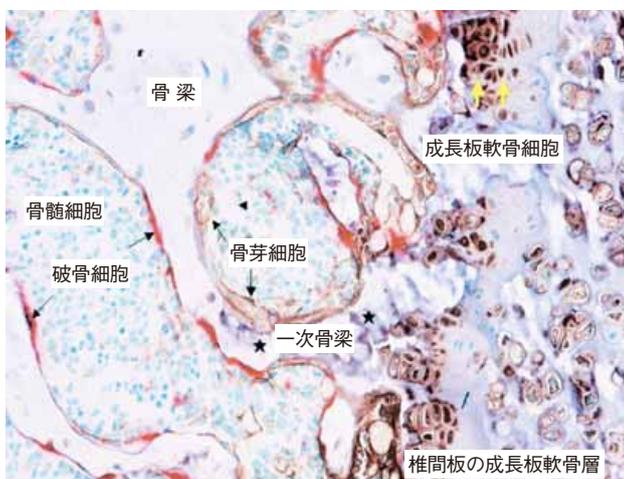


図3. マウス脊椎骨 非脱灰骨GMA樹脂包埋切片のTRAP/ALP染色
マウス脊椎骨非脱灰骨GMA樹脂包埋薄切標本(2ミクロン切片)に対しTRAP/ALP染色及び核染色を行った。
その結果、TRAP染色で破骨細胞が赤紫色に染色され、ALP染色で骨芽細胞の細胞膜、軟骨細胞膜と細胞間膜が茶褐色に染色された。また、核染色液で各種細胞の核が青緑色にそれぞれ染色された。
(データご提供：河原 元先生)

骨代謝の研究に!

TRAP/ALP 染色キット

特長

- 2液を混合するだけで、酸性ホスファターゼの酵素活性の染色に必要な発色基質液が調製できる(酒石酸耐性評価を行う場合は3液を混合)
- アルカリホスファターゼの酵素活性の染色はプレミックス基質液を使用し、簡単に行うことができる
- 酸性ホスファターゼの活性存在部位を赤紫色に、アルカリホスファターゼの活性存在部位を青色～茶色がかかった青色に2重染色できる
- 培養細胞、骨組織切片(非脱灰GMA樹脂包埋切片)に使用できる

キット内容 (60回用*)

- 酒石酸溶液 (×10) 3ml × 1本
- 酸性ホスファターゼ基質液A 30ml × 1本
- 酸性ホスファターゼ基質液B 0.3ml × 1本
- 核染色試薬 10ml × 1本
- アルカリホスファターゼプレミックス基質液 30ml × 1本

*本品は培養細胞では24ウェルマルチプレート5回用、96ウェルマルチプレート6回用、骨組織スライド(1スライドあたり500μl使用として)で60枚用に相当

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-67001	TRAP/ALP Stain Kit	病理研究用	60回用	25,000



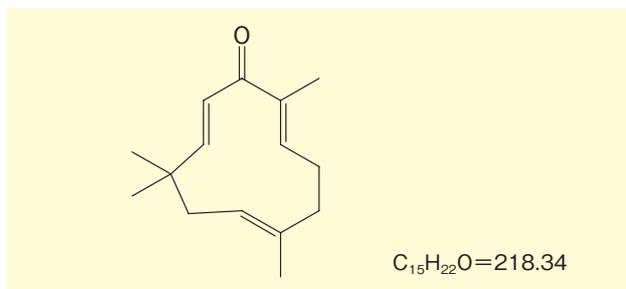
多機能性化合物

Wako

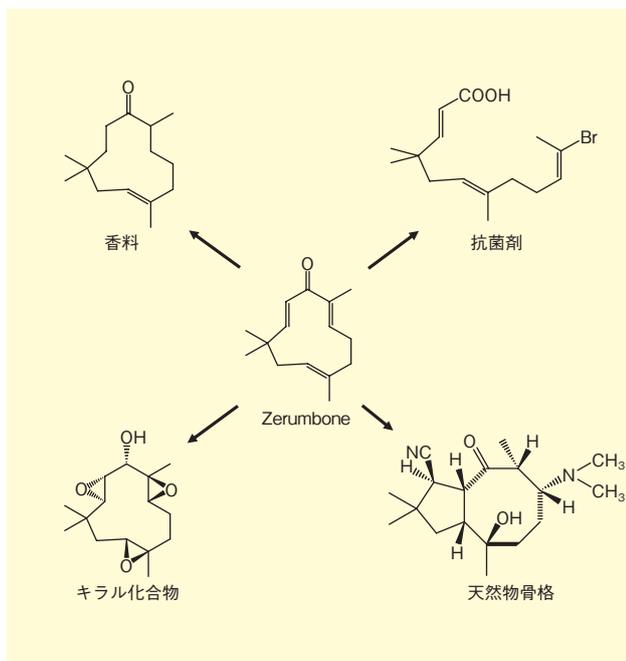
ゼルンボン

本品はハナショウガ (*Zingiber zerumbet* Smith) の根茎中に3~4%存在している、11員環のセスキテルペンです。構造中に、共役カルボニル基、孤立二重結合などを有しており、多様な反応性が期待できます。なお、これまでの研究例として、抗炎症作用、発がんウイルス Epstein-Barr の増殖阻害効果、メラニン形成阻害効果などを有することが報告されています。

化学名：2,6,9,9-Tetramethyl-2,6,10-cycloundecatrien-1-one
CAS No. : 471-05-6



反応例



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
261-01931	Zerumbone	有機合成用	1g	12,000
267-01933			5g	42,000

ポジティブリスト 関連標準品 Wako

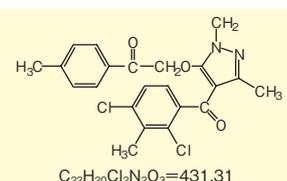
ポジティブリスト関連の残留農薬試験用標準品及び HPLC 用動物用医薬品標準品の追加品目をご紹介します。品目は順次追加しております。

品目追加

農薬標準品

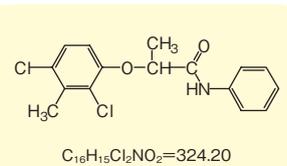
ベンゾフェナップ標準品

化学名：2-[4-(2,4-Dichloro-*m*-toluoyl)-1,3-dimethylpyrazol-5-yloxy]-4'-methylacetophenone
別名：Yukawide
CAS No. : 82692-44-2
含量 (HPLC) : 98.0% 以上
外観：白色、結晶~粉末、または塊
備考：除草剤



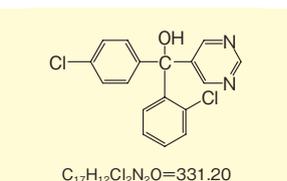
クロメブロップ標準品

化学名：(*RS*)-2-(2,4-Dichloro-*m*-tolylxy)propionanilide
別名：Yukahope
CAS No. : 84496-56-0
含量 (cGC) : 98.0% 以上
外観：白色、結晶~粉末
溶解性：水 0.032mg/l (25°C)
キシレン 17、アセトン 33、シクロヘキサン 9、ジメチルホルムアミド 20 (g/l, 20°C)
備考：除草剤



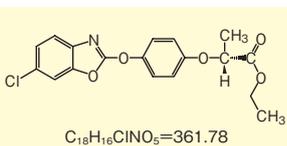
フェナリモル標準品

化学名：(±)-2,4'-Dichloro- α -(pyrimidin-5-yl)benzhydriyl Alcohol
別名：Rubigan
CAS No. : 60168-88-9
含量 (Ti, cGC) : 98.0% 以上
外観：白色、結晶~粉末
溶解性：水 13.7mg/l (pH 7, 25°C)
アセトン 151、メタノール 98、キシレン 33.3 (g/l, 20°C)
備考：殺菌剤



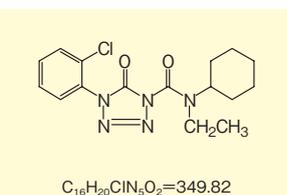
フェノキサプロップ-P エチル標準品

化学名：Ethyl (*R*)-2-[4-(6-Chloro-1,3-benzoxazol-2-yloxy)phenoxy]propionate
別名：Super-Whip
CAS No. : 71283-80-2
含量 (cGC) : 98.0% 以上
外観：白色、結晶~粉末
溶解性：水 0.7mg/l (pH 5.8, 20°C)
アセトン 200、トルエン 200、酢酸エチル >200 (g/l, 20°C)
備考：除草剤



フェントラザミド標準品

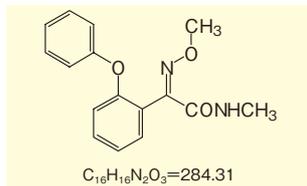
化学名：4-(2-Chlorophenyl)-*N*-cyclohexyl-*N*-ethyl-4,5-dihydro-5-oxo-1*H*-tetrazole-1-carboxamide
別名：Lecs
CAS No. : 158237-07-1
含量 (HPLC) : 98.0% 以上
外観：白色、結晶~粉末
溶解性：水 2.3mg/l (20°C)
n-ヘプタン 2.1、イソプロパノール 32、ジクロロメタン >250、キシレン >250 (g/l, 20°C)
備考：除草剤



[次頁に続く]

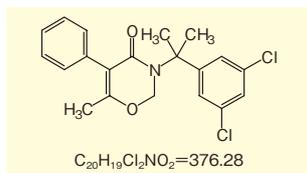
■ (Z)-メトミノストロビン標準品

化学名: (Z)-2-Methoxyimino-N-methyl-2-(2-phenoxyphenyl)acetamide
CAS No.: 133408-51-2
含量 (cGC): 98.0% 以上
外 観: 白色、結晶～結晶性粉末
備 考: メトミノストロビンの Z 体



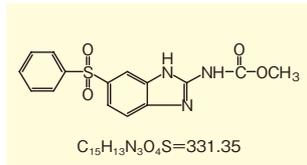
■ オキサジクロメホン標準品

化学名: 3-[1-(3,5-Dichlorophenyl)-1-methylethyl]-3,4-dihydro-6-methyl-5-phenyl-2H-1,3-oxazin-4-one
別 名: MY-100
CAS No.: 153197-14-9
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色、結晶性粉末～粉末
溶解性: 水 0.18 ppm (25℃)
備 考: 除草剤



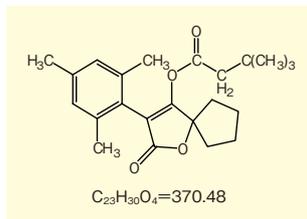
■ オクスフェンダゾールスルホン標準品

化学名: Methyl [5-(Phenylsulfonyl)-1H-benzimidazol-2-yl] carbamate
CAS No.: 54029-20-8
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色～わずかに灰色の灰褐色、結晶性粉末～粉末
備 考: オクスフェンダゾールの代謝産物



■ スピロメシフェン標準品

化学名: 3-Mesityl-2-oxo-1-oxaspiro [4.4]non-3-en-4-yl 3,3-Dimethylbutyrate
別 名: Oberon
CAS No.: 283594-90-1
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色、結晶～粉末
溶解性: 水 0.13 mg/ml
備 考: 殺虫剤



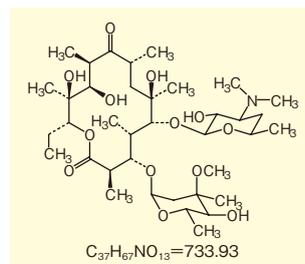
コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
025-16221	Benzofenap Standard	残留農業試験用	100mg	25,000
033-20731	Clomeprop Standard	残留農業試験用	100mg	30,000
069-05191	Fenarimol Standard	残留農業試験用	100mg	8,000
069-05211	Fenoxaprop-P-ethyl Standard	残留農業試験用	100mg	10,000
062-05201	Fentrazamide Standard	残留農業試験用	100mg	22,000
139-15911	(Z)-Metominostrobin Standard	残留農業試験用	20mg	30,000
150-02851	Oxaziclomefone Standard	残留農業試験用	100mg	25,000
157-02861	Oxfendazole Sulfone Standard	残留農業試験用	100mg	30,000
194-15141	Spiromesifen Standard	残留農業試験用	100mg	35,000

品目追加

動物用医薬品標準品

■ エリスロマイシン A 標準品

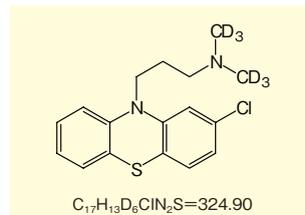
CAS No.: 114-07-8
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色の粉末
溶解性: 水～2 mg/ml
アルコール、アセトン、クロロホルム、アセトニトリル、酢酸エチルに可溶
備 考: 抗生物質



■ 安定同位体

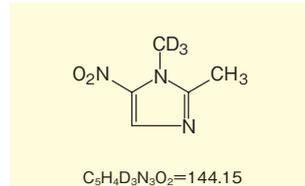
■ クロルプロマジン-d₆ 標準品

化学名: 2-Chloro-10-(3-dimethyl-d₆-aminopropyl)phenothiazine
含量 (HPLC): 97.0% 以上
外 観: 白色～わずかに黄褐色、結晶性粉末～粉末
重水素化率: 98% 以上



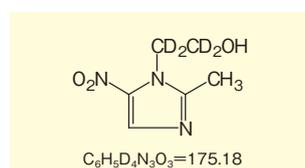
■ ジメトリダゾール-d₃ 標準品

化学名: 1,2-Dimethyl-d₃-5-nitro-1H-imidazole
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色～黄色、結晶～結晶性粉末
重水素化率: 98% 以上



■ メトロニダゾール-d₄ 標準品

化学名: 2-Methyl-5-nitro-1H-imidazole-1-ethanol-d₄
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色～わずかに黄色、結晶～結晶性粉末
重水素化率: 98% 以上



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
056-07361	Erythromycin A Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	12,000
039-20571	Chlorpromazine-d ₆ Standard	環境分析用	10mg	50,000
046-30531	Dimetridazole-d ₃ Standard	環境分析用	10mg	35,000
130-15681	Metronidazole-d ₄ Standard	環境分析用	10mg	50,000

● その他のポジティブリスト関連品目は下記 URL をご参照下さい。
http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/article/positivelist_1.htm

食品添加物試験用



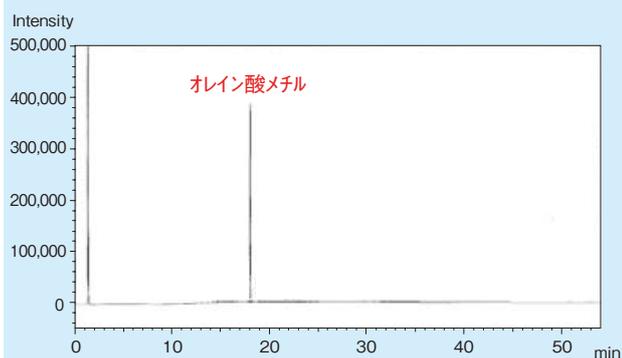
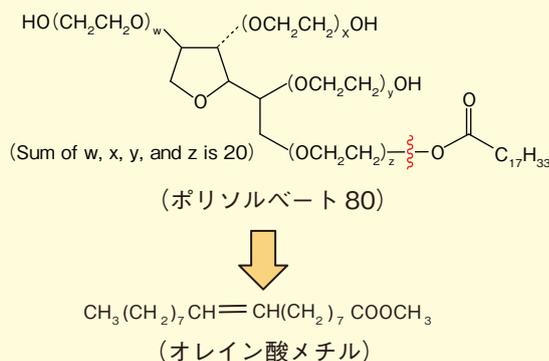
ポリソルベート 80 標準品

ポリソルベート 20、同 60、同 65、及び同 80 は平成 20 年 4 月 30 日に食品添加物に指定されました。それに伴い、同日付け食安基発第 0430002 号により、「食品中の食品添加物分析法」が改正され、ポリソルベート各種の分析法が加えられました。

上記通達記載の分析法の内、比色法で使用されるポリソルベート 80 標準品を発売しました。ぜひご利用下さい。

構成脂肪酸確認試験

ポリソルベート 80 中の構成脂肪酸をメチル化した後、GC 法により測定。



[GC conditions]
 Column : DB-WAX 0.32mm×30m×0.5 μm
 80°C→10°C/min→220°C (40min)
 Injection : 230°C
 Detector : 230°C
 Mode : GC-FID
 Flow : 2.5 mL/min
 Split Ratio : 1/50
 Injection Volume : 1 μL

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
164-23671	Polysorbate 80 Standard	食品添加物試験用	500mg	10,000

日本薬局方収載



生薬試験用試薬類

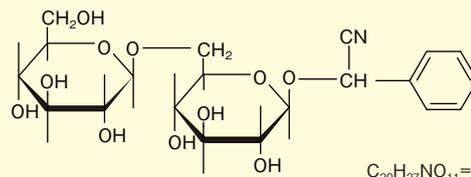
■ アミグダリン

本品は「トウニン」の確認試験用として使用されます。規格は第十五改正日本薬局方第一追補に準じています。トウニンは婦人薬、瀉下薬とみなされる漢方処方に含まれています。

起源 : *Prunus armeniaca* Linné

Prunus armeniaca Linné var. *ansu* Maximowicz
(Rosaceae)

CAS No. : 29883-15-6



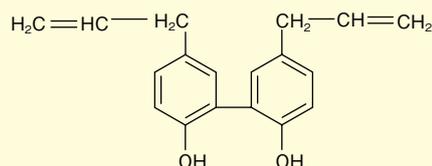
■ マグノロール

本品は「コウボク」の成分含量測定及び薄層クロマトグラフィーに用いられます。規格は第十五改正日本薬局方第一追補に準じています。コウボクは健胃消化薬、瀉下薬、鎮咳去痰薬とみなされる漢方処方に含まれています。

起源 : *Magnolia obovata* Thunberg, *Magnolia officinalis* Rehder et Wilson

Magnolia officinalis Rehder et Wilson var. *biloba* Rehder et Wilson (Magnoliaceae)

CAS No. : 528-43-8



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-21751	Amygdalin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	20mg	10,000
137-15691	Magnolol	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	20,000

組換えタグ融合タンパク質の検出・精製用 Wako

抗タグ, モノクローナル抗体 (6×His, GST, c-Myc, HA)

6×Hisタグ、GSTタグ、c-Mycタグ、HAタグのモノクローナル抗体を新たにラインナップしました。免疫沈降とウエスタンブロットの両方に使用可能です。



特長

- 安価
- 免疫沈降とウエスタンブロットに使用可能
- HRP 標識抗体もラインナップ (GST、c-Myc、HA)

製品概要

形状：50%グリセロールを含む1×PBS溶液

精製：マウス腹水をプロテインAアフィニティークロマトグラフィーにて精製

抗体名	標識	抗原	サブクラス	クローン No.	使用濃度	
					ウエスタンブロット	免疫沈降
Anti 6×His, MoAb*	—	合成ペプチド (6×His)	IgG1	9F2	0.125-1 μg/ml	2-3 μg/20 μl ビーズ
Anti GST, MoAb	—	GSTタンパク	IgG2b	5A7	0.125-1 μg/ml	1-2 μg/20 μl ビーズ
	HRP				1:250-1:2,000	—
Anti c-Myc, MoAb	—	合成ペプチド EQKLISEEDL	IgG1	9E10	0.125-1 μg/ml	1-2 μg/20 μl ビーズ
	HRP				1:250-1:2,000	—
Anti HA, MoAb	—	合成ペプチド YPYDVPDYA	IgG2b	4B2	0.125-1 μg/ml	1-2 μg/20 μl ビーズ
	HRP				1:250-1:2,000	—

*抗6×His、モノクローナル抗体は組換えタンパク質のC末端側に融合している6×Hisポリペプチドを認識します。

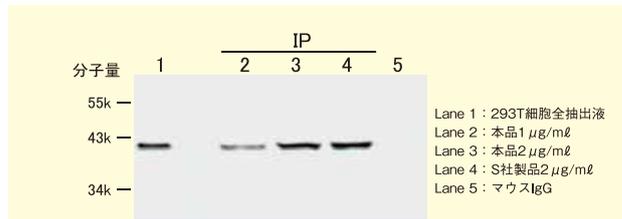
使用例 免疫沈降

各タグ配列を融合させた組換えタンパク質の遺伝子を293T細胞に導入し、細胞溶出液からProteinA/Gビーズにより免疫沈降を行った。

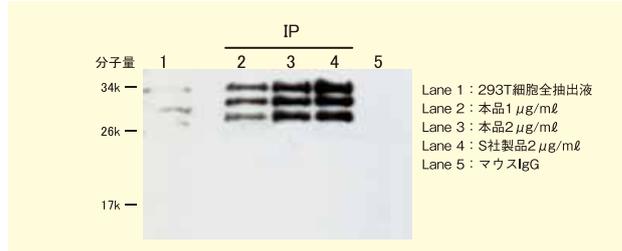
Anti 6×His, Monoclonal Antibody [コードNo.010-21861]



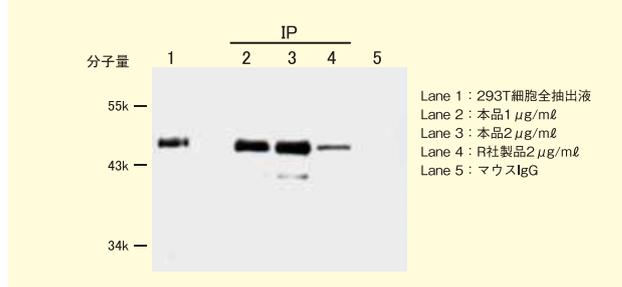
Anti GST, Monoclonal Antibody [コードNo.013-21851]



Anti c-Myc, Monoclonal Antibody [コードNo.017-21871]



Anti HA, Monoclonal Antibody [コードNo.014-21881]



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
010-21861	Anti 6×His, Monoclonal Antibody	免疫化学用	200 μg	30,000
013-21851	Anti GST, Monoclonal Antibody	免疫化学用	200 μg	30,000
017-21871	Anti c-Myc, Monoclonal Antibody	免疫化学用	200 μg	30,000
014-21881	Anti HA, Monoclonal Antibody	免疫化学用	200 μg	30,000
011-21891	Anti GST, Monoclonal Antibody, Peroxidase Conjugated	免疫化学用	100 μl	33,000
014-21901	Anti c-Myc, Monoclonal Antibody, Peroxidase Conjugated	免疫化学用	100 μl	33,000
011-21911	Anti HA, Monoclonal Antibody, Peroxidase Conjugated	免疫化学用	100 μl	33,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-67401	Metal Chelate Agarose Set (Ni, Co, Cu, Zn) Ni, Co, Cu, Zn-アガロース1mℓ各1本のセット品	遺伝子研究用	1mℓ×4	15,000
145-07981			5ml	19,000
141-07983	Ni-Agarose	遺伝子研究用	10ml	27,000
149-07984			100ml	120,000
031-19781	Co-Agarose	遺伝子研究用	5ml	29,500
038-19791	Cu-Agarose	遺伝子研究用	5ml	25,000
263-01871	Zn-Agarose	遺伝子研究用	5ml	25,000

Argonaute2 (Ago2) 結合性 microRNA 精製キット Wako

マイクロ RNA アイソレーションキット, マウス Ago2

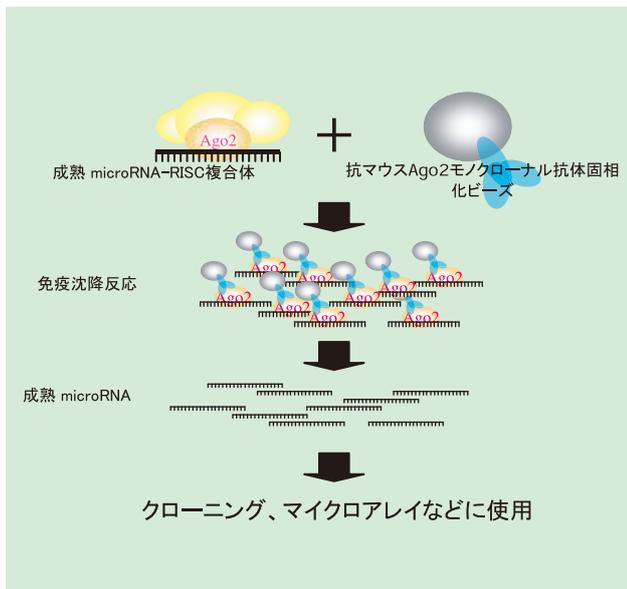
microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2は、高品質のマウス Ago2モノクローナル抗体を利用した免疫沈降法により、microRNA-Ago2複合体を回収し、microRNAをはじめAgo2タンパク質結合性RNAを取得するキットです。

本キットは、Ago2に取込まれたmicroRNAを高純度を含むRNA画分を調製でき、従来精製法に比べ簡便かつ特異的にmicroRNAの精製が可能です。

特長

- マウス、ラット、ハムスター Ago2の免疫沈降が可能
- Ago2タンパク質に結合したmicroRNAを高純度に精製可能
- rRNAやtRNAの分解産物や他のsmall RNAなどの夾雑が少ない
- 精製したmicroRNA画分はクローニングやマイクロアレイに応用可能

原理

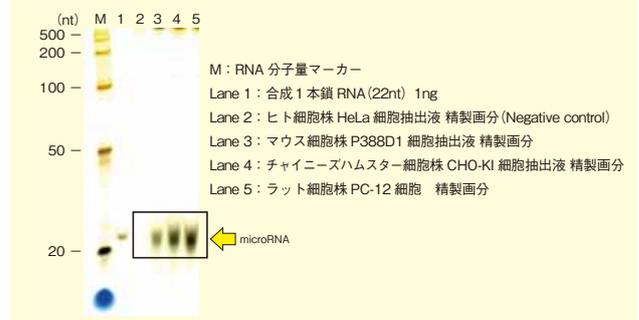


キット内容 (10回用)

- Anti Mouse Ago2 Antibody Beads Solution 500 μ l \times 1 本
- Cell Lysis Solution 50ml \times 1 本
- Elution Solution 500 μ l \times 1 本
- Ethachinmate 30 μ l \times 1 本
- 3 mol/l Sodium Acetate 400 μ l \times 1 本

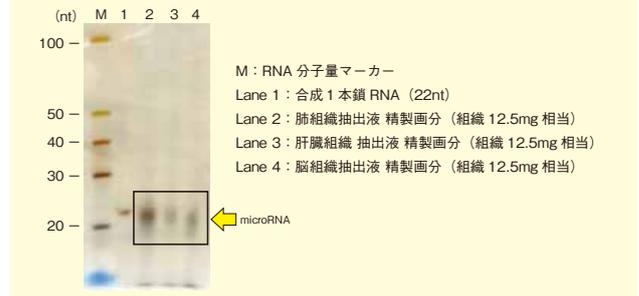
使用例

培養細胞株由来microRNAの精製



microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2を用いて、ヒト培養細胞 (HeLa) 及びげっ歯類培養細胞株 (P388D1、CHO、PC-12) から精製した microRNA画分をUrea-PAGEにより分離し、銀染色によって検出した。その結果、3種のげっ歯類細胞株特異的にmicroRNAが精製できた。使用細胞数は 5×10^6 cells相当。

マウス組織からのmicroRNA精製



マウスから採取した肺、肝臓及び脳組織において、microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2によるmicroRNA精製を行った。その後、精製したmicroRNA画分をUrea-PAGEにより分離し、銀染色によって検出した。その結果、肺、肝臓及び脳からmicroRNAが精製できた。

【本キットで精製したmicroRNA画分のクローニング】

抽出したmicroRNA画分を用いたmicroRNAクローニングデータは下記URLをご参照下さい。
<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/gene/article/miISOMouse.htm>

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
292-67301	microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2	遺伝子研究用	10回用	45,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
292-66701	microRNA Isolation Kit, Human Ago2	遺伝子研究用	10回用	45,000
014-22023	Anti Mouse Ago2,	免疫化学用	50 μ l	30,000
018-22021	Monoclonal Antibody		100 μ l	50,000
011-22033	Anti Human Ago2,	免疫化学用	50 μ l	30,000
015-22031	Monoclonal Antibody		100 μ l	50,000

カラムフリーで低分子DNA断片(≤50bp)を除去

DNA クリーナー

本品は、有機溶媒やスピンカラムを使用せずに35分間で50bp以下のDNA断片を効率よく除去できる試薬です。また、従来のカラムを用いた精製法と比較して、少量DNAの回収率が大きく改善されました。二本鎖RNAの精製にも使用できます。PCR後のプライマー、プライマーダイマー、dNTP、DNAポリメラーゼや、制限酵素反応後の酵素類の除去に最適です。

また、ABI社BigDye Cycle Sequencing kitで増幅したシーケンス用DNAサンプルを精製する際、従来のエタノール沈殿法に替わり本品を用いることでクリアなシーケンス結果が得られます。

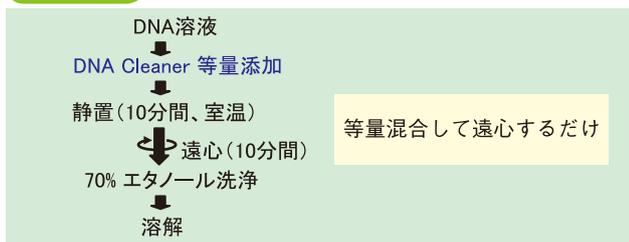
特長

- カラムを使用せずにPCR増幅産物を精製
- 500~2,500ngのDNAを高効率(90%以上)に濃縮
- 35分以内でPCR後の核酸を精製
- シンプルなプロトコール

用途

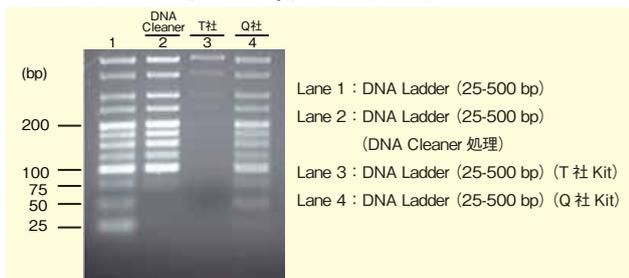
プライマー除去	dNTP除去	低分子DNA(≤50bp)除去	DNA精製	シーケンス用標識反応後精製	酵素除去
○	○	◎	○ 100~10,000 bp	○	○ PCR用DNAポリメラーゼ、制限酵素、その他修飾酵素

使用法



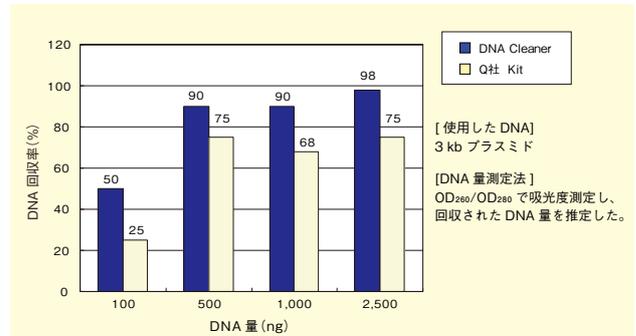
データ

低分子DNA(≤50bp)の除去性能



DNA Ladder (25-500bp) を用い各社製品により低分子DNAの除去を行った。本品は、50bp及び25bpのDNA断片を除去でき、75bp以上のDNA断片を効率よく回収できた。

微量DNAの回収性能



100~2,500ngのプラスミドDNAを用い各社製品により回収実験を行った。本品は、Q社KitよりもDNAを効率よく回収でき、500ng以上のDNA回収率は90%以上であった。

詳しくは当社ホームページ (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/gene/article/DNACleaner.htm>) をご参照下さい。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
045-30741	DNA Cleaner	遺伝子研究用	5ml	25,000

細胞外マトリックス

エラスチン分画品, 水溶性, ブタ大動脈由来

エラスチンは皮膚の真皮・韧带・腱・血管壁など、伸縮性の必要な組織に多く存在する構造タンパク質であり、細胞接着や細胞遊走など生物学的機能に関与することが知られています。

本品はブタ由来エラスチンを加水分解処理により水溶性し、コアセルベーション[※]を起こす温度に応じて分画した水溶性エラスチンの分画品です。

血管平滑筋細胞培養において、コラーゲンを有している場合、細胞は未分化で増殖する「合成型」形質を有していますが、本品を用いた場合、分化が進み筋線維が発達した「収縮型」の形質を有することが確認されています。

由来：国内産ブタ 大動脈

外観：凍結乾燥品

保存条件：室温

性質：	コアセルベーション [※] 温度 (0.1% 溶液)	分子量
エラスチン-A	20 ~ 22.5°C	大きい ↑ ↓ 小さい
エラスチン-B	22.5 ~ 25°C	
エラスチン-C	25 ~ 30°C	
エラスチン-D	30 ~ 35°C	

[※]コアセルベーション：トロポエラスチン(エラスチン前駆体)や水溶性エラスチンで見られる熱可逆性の相分離現象。水溶性エラスチンの溶液は低温では透明な溶液であるが、高温では自己集合を起こし白濁し、温度を下げると再び透明な溶液に戻る。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
050-07761	Elastin-A, Water Soluble, from Porcine Aorta	細胞生物学用	100mg	10,000
057-07771	Elastin-B, Water Soluble, from Porcine Aorta	細胞生物学用	100mg	10,000
054-07781	Elastin-C, Water Soluble, from Porcine Aorta	細胞生物学用	100mg	15,000
051-07791	Elastin-D, Water Soluble, from Porcine Aorta	細胞生物学用	100mg	15,000

品目追加

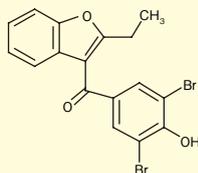
薬理研究用試薬

薬理研究用試薬を新たに21品目追加しました。薬理作用の研究などにぜひ、ご利用下さい。

また、医療、畜産の分野で、多くの医薬品が使用され、環境中への排出、残留、水中生物への影響が懸念されております。環境分析分野においてもご利用下さい。



■ベンズプロマロン

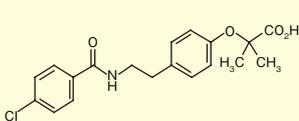


$C_{17}H_{12}Br_2O_3 = 424.08$

CAS No. : 3562-84-3

薬としての用途：尿酸排泄作用を有し、高尿酸血症を伴う高血圧症治療、痛風治療に用いられる。

■ベザフィブラート

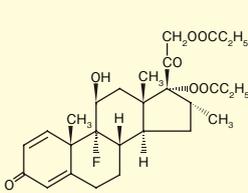


$C_{19}H_{20}ClNO_4 = 361.82$

CAS No. : 41859-67-0

薬としての用途：高脂血症治療に用いられる。

■ジプロピオン酸デキサメタゾン

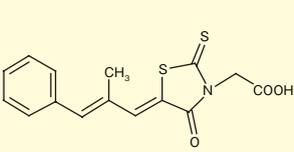


$C_{28}H_{37}FO_7 = 504.59$

CAS No. : 55541-30-5

薬としての用途：皮膚炎などの抗炎症剤として用いられる。

■エバルレスタット

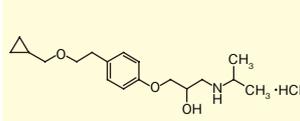


$C_{15}H_{13}NO_3S_2 = 319.40$

CAS No. : 82159-09-9

薬としての用途：アルドース還元酵素阻害作用を有し、糖尿病による手足の痺れや痛みの改善に用いられる。

■(±)-ベタキソロール塩酸塩

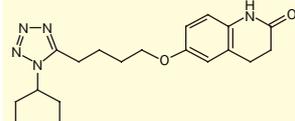


$C_{18}H_{29}NO_3 \cdot HCl = 343.89$

CAS No. : 63659-19-8

薬としての用途：狭心症、腎実性高血圧症、本態性高血圧症、緑内障、高眼圧症の治療に用いられる。

■シロスタゾール

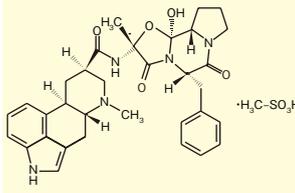


$C_{20}H_{27}N_2O_2 = 369.46$

CAS No. : 73963-72-1

薬としての用途：血栓症、慢性動脈閉塞症が原因の潰瘍、疼痛、冷感などの虚血性諸症状の改善に用いられる。

■ジヒドロエルゴタミンメシル酸塩

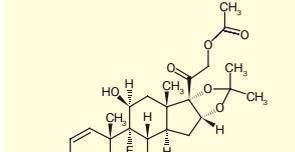


$C_{33}H_{37}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S = 679.78$

CAS No. : 6190-39-2

薬としての用途：血管収縮作用があり、血管性頭痛（片頭痛）、起立性低血圧用剤などに用いられる。

■フルオシノニド

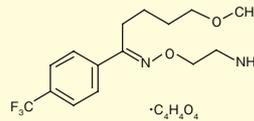


$C_{26}H_{32}F_2O_7 = 494.53$

CAS No. : 356-12-7

薬としての用途：合成副腎皮質ホルモン。鎮痛、鎮痒、収斂、消炎剤として用いられる。

■フルボキサミンマレイン酸塩

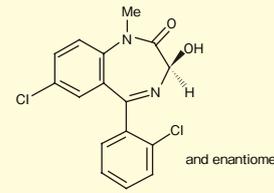


$C_{15}H_{21}F_3N_2O_2 \cdot C_4H_4O_4 = 434.41$

CAS No. : 61718-82-9

薬としての用途：選択的セロトニン再取り込み阻害作用を持ち、うつ病、うつ状態、強迫性障害、社会不安障害の治療に用いられる。

■ロルメタゼパム(異性体混合物)



$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O_2 = 335.18$

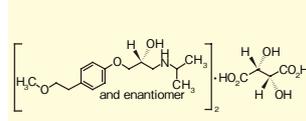
CAS No. : 848-75-9

薬としての用途：不眠症に対し、睡眠導入剤として用いられる。また、各種麻酔との併用で入眠時間の短縮、睡眠時間延長作用がある。

備考：

麻薬及び向精神薬取締法：第三種向精神薬
購入には「向精神薬試験研究施設設置者登録証」等の許可証が必要です。

■メプロロール酒石酸塩(異性体混合物)

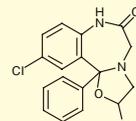


$(C_{15}H_{25}NO_3)_2 \cdot C_4H_6O_6 = 684.81$

CAS No. : 56392-17-7

薬としての用途： β_1 選択性遮断剤。高血圧症、狭心症、不整脈の治療に用いられる。

■オキサゾラム



$C_{18}H_{17}ClN_2O_2 = 328.79$

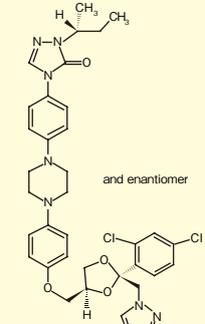
CAS No. : 24143-17-7

薬としての用途：鎮痛、催眠、抗うつ、筋緊張緩和作用があり、抗不安剤として用いられる。

備考：

麻薬及び向精神薬取締法：第三種向精神薬
購入には「向精神薬試験研究施設設置者登録証」等の許可証が必要です。

■イトラコナゾール(異性体混合物)

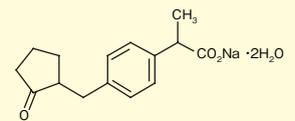


$C_{35}H_{38}Cl_2N_6O_4 = 705.63$

CAS No. : 84625-61-6

薬としての用途：アゾール系抗真菌薬。表皮性皮膚真菌症や内臓真菌症、爪白癬の治療に用いられる。

■ロキソプロフェンナトリウム二水和物

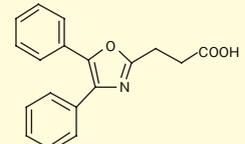


$C_{15}H_{17}NaO_3 \cdot 2H_2O = 304.31$

CAS No. : 80382-23-6

薬としての用途：解熱鎮痛、消炎剤として用いられる。

■オキサプロジン

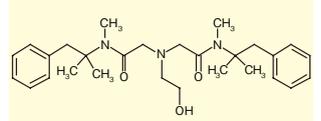


$C_{18}H_{15}NO_3 = 293.32$

CAS No. : 21256-18-8

薬としての用途：解熱消炎鎮痛剤として用いられる。

■オキセサゼイン



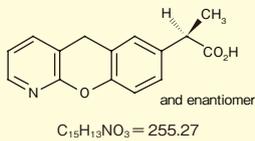
$C_{28}H_{41}N_3O_3 = 467.64$

CAS No. : 126-27-2

薬としての用途：胃粘膜局所麻酔、胃疼痛改善剤として用いられる。

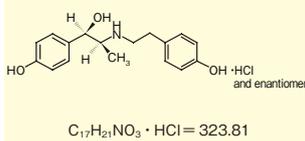
[次頁に続く]

■ プラノプロフェン(異性体混合物)



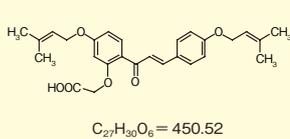
CAS No. : 52549-17-4
薬としての用途：消炎、解熱、鎮痛剤として用いられる。

■ リトドリン塩酸塩(異性体混合物)



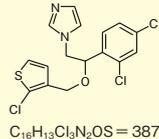
CAS No. : 23239-51-2
薬としての用途：切迫流産、早産治療剤として用いられる。

■ ソファルコン



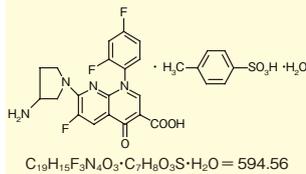
CAS No. : 64506-49-6
薬としての用途：消化性潰瘍剤として用いられる。

■ チオコナゾール



CAS No. : 65899-73-2
薬としての用途：イミダゾール系抗真菌剤。抗菌スペクトラムが広く、白癬菌、カンジダ、黴菌などの治療に用いられる。

■ トシル酸スフロキサシン水合物



CAS No. : 107097-79-0
薬としての用途：合成抗菌剤。感染症治療剤として用いられる。

コード	英名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-15851	Benzbromarone	薬理研究用	5g	10,000
026-15852			25g	36,000
025-16101	(±)-Betaxolol Hydrochloride	薬理研究用	1g	15,000
022-16091	Bezafibrate	薬理研究用	5g	10,000
038-20661	Cilostazol	薬理研究用	5g	20,000
044-30571	Dexamethasone Dipropionate	薬理研究用	1g	8,500
040-30573			5g	30,000
041-30601	Dihydroergotamine Mesylate	薬理研究用	1g	15,000
058-07701	Epalrestat	薬理研究用	1g	7,000
054-07703			5g	26,000
064-05141	Fluocinonide	薬理研究用	1g	7,000
060-05143			5g	25,000
065-05171	Fluvoxamine Maleate	薬理研究用	5g	15,000
092-05581	Itraconazole (mixture of isomers)	薬理研究用	5g	15,000
121-05541	Lormetazepam (mixture of isomers)	薬理研究用	500mg	25,000
120-05511	Loxoprofen Sodium Salt Dihydrate	薬理研究用	1g	4,000
128-05512			25g	36,000
135-15751	Metoprolol Tartrate (mixture of isomers)	薬理研究用	5g	10,000
156-02711	Oxaprozin	薬理研究用	5g	6,000
154-02712			25g	20,000
157-02741	Oxazolam	薬理研究用	500mg	21,000
153-02721	Oxethazaine	薬理研究用	5g	6,000
151-02722			25g	20,000
161-23441	Pranoprofen (mixture of isomers)	薬理研究用	5g	12,000
186-02231	Ritodrine Hydrochloride (mixture of isomers)	薬理研究用	500mg	15,000
195-14831	Sofalcone	薬理研究用	5g	5,000
193-14832			25g	16,000
205-17141	Tioconazole	薬理研究用	5g	12,000
207-17101	Tosufloxacin Tosylate Monohydrate	薬理研究用	5g	6,000
205-17102			25g	20,000

魚類のカロテノイド



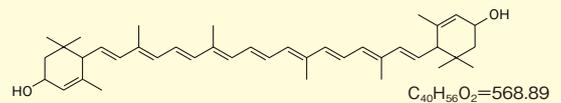
ツナキサンチン

ツナキサンチンはブリやマダイにおいて、アスタキサンチンから代謝され、生合成されることが知られているカロテノイドです。

純度 (HPLC) : 94%

形状 : 結晶品

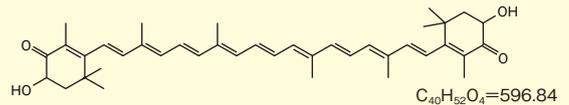
製法 : 合成



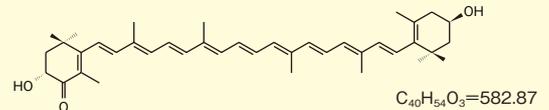
コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
517-42561	0149	Tunaxanthin [3 <i>RS</i> ,6 <i>RS</i> ,3' <i>RS</i> ,6' <i>RS</i>]-ε,ε-Carotene-3,3'-diol]	1mg	126,200

関連商品 カロテノイド類

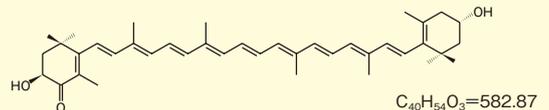
■ アスタキサンチン



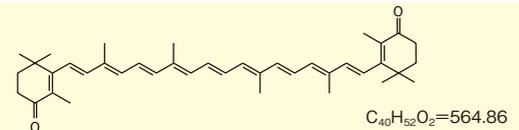
■ (3*R*,3'*R*)-アドニキサンチン



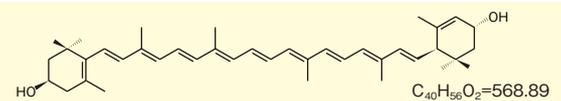
■ (3*S*,3'*S*)-アドニキサンチン



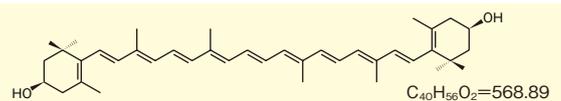
■ カンタキサンチン



■ ルテイン



■ ゼアキサンチン



コードNo.	メーカーコード (メーカー略号)	品名	容量	希望納入価格(円)
013-18661	—	Astaxanthin	250mg	14,000
515-23821	0328.1 (CAR)	(3 <i>R</i> ,3' <i>R</i>)-Adonixanthin	1mg	148,200
512-23831	0328.2 (CAR)	(3 <i>S</i> ,3' <i>S</i>)-Adonixanthin	1mg	148,200
516-23851	0380 (CAR)	Canthaxanthin	1mg	12,000
515-23941	0133 (CAR)	Lutein	1mg	38,400
514-24011	0119 (CAR)	Zeaxanthin	1mg	76,800

CAR : CaroteNature

神経系シグナル伝達研究に！ **グルタミン酸受容体作用物質**

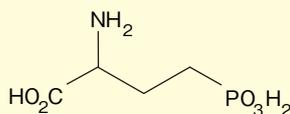
当社でラインナップしているグルタミン酸受容体作用物質に新しく2品目が追加になりました。

その他にも、GABA受容体作用物質などを多数ご用意しております。詳しくは、当社ホームページ (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/men/article/glu.htm>) をご参照下さい。

DL-2-アミノ-4-ホスホノ酪酸 [DL-AP4]

NMDA型 Glu受容体アンタゴニストです。

含量 (HPLC) : 98.0%以上
 塩酸溶状 : 試験適合
 CAS No. : 6323-99-5

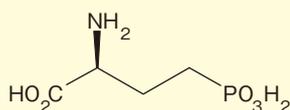


C₄H₁₀NO₅P=183.10

L-2-アミノ-4-ホスホノ酪酸 [L-AP4]

代謝調節型 Glu受容体グループ3 (mGluR4, mGluR6) の選択的アゴニストです。

含量 (HPLC) : 98.0%以上
 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ (c=0.1, CH₃OH) : +24 ~ +27°
 塩酸溶状 : 試験適合
 CAS No. : 23052-81-5



C₄H₁₀NO₅P=183.10

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
 013-22071	DL-2-Amino-4-phosphonobutyric Acid [DL-AP4]	細胞生物学用	100mg	16,000
 010-22081	L-2-Amino-4-phosphonobutyric Acid [L-AP4]	細胞生物学用	2mg	10,000
016-22083			10mg	36,000

生体防御機能研究に！ **LPS(リポポリサッカリド)**

大腸菌 LPSは腸管出血性大腸菌感染症診断の抗原としても用いられています。カンピロバクターゲジュニは、神経疾患であるギラン・バレー症候群の発症因子として考えられており、このLPSは上記症候群患者由来カンピロバクターから抽出しています。また、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おり、プロテウス菌三種から得られたLPSは、リケッチア感染症(発疹症、発疹チフス、ツツガ虫病)の診断法である Weil-Felix 反応の抗原としても用いられています。

LPSのラインナップがさらに充実しました。詳しくは、当社ホームページ (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/men/article/lps.htm>) をご参照下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
Escherichia coli フェノール抽出品				
120-05131	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26	細胞生物学用	25mg	14,000
127-05141	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55	細胞生物学用	25mg	14,000
125-05201	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111	細胞生物学用	25mg	14,000
124-05151	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127	細胞生物学用	25mg	14,000
Escherichia coli 超遠心品				
121-05161	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O26	細胞生物学用	5mg	17,000
128-05171	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O55	細胞生物学用	5mg	17,000
126-05471	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O103	細胞生物学用	5mg	17,000
125-05181	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O111	細胞生物学用	5mg	17,000
122-05191	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O127	細胞生物学用	5mg	17,000
129-05461	Lipopolysaccharide, from <i>E. coli</i> O157	細胞生物学用	5mg	17,000
Campylobacter jejuni フェノール抽出品				
 128-05671	Lipopolysaccharide, from <i>C. jejuni</i> Penner O:19	細胞生物学用	5mg	17,000
Salmonella minnesota 超遠心品				
 124-05651	Lipopolysaccharide, from <i>S. minnesota</i> 1114	細胞生物学用	5mg	18,000
 121-05661	Lipopolysaccharide, from <i>S. minnesota</i> R595	細胞生物学用	5mg	18,000
Proteus フェノール抽出品				
124-05271	Lipopolysaccharide, from <i>P. vulgaris</i> OX2	細胞生物学用	25mg	15,000
121-05281	Lipopolysaccharide, from <i>P. vulgaris</i> OX19	細胞生物学用	25mg	15,000
128-05291	Lipopolysaccharide, from <i>P. mirabilis</i> OXK	細胞生物学用	25mg	15,000

< LPSの受託生産と販売 >

当社では、グラム陰性菌の入手、菌体培養、LPSの抽出・精製の受託生産を行っております。ご希望の方は、当社または当社代理店の営業員までご連絡下さい。

糖尿病研究用試薬

Shibayagi

マウス、ラット高分子アディポネクチン測定キット

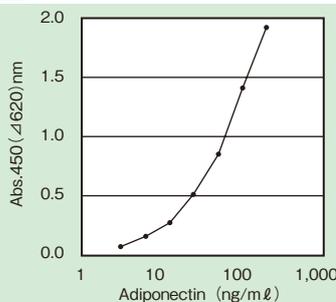
本キットはELISA法によりラット、マウスの高分子アディポネクチンを微量検体から短時間で測定できるキットです。レビスシリーズで販売しているレプチン、TNF- α レジスチンと合わせてアディポサイトカインの測定にご利用下さい。

特長

- 短時間で測定可能（全反応時間 4時間）
- 微量検体（血清、血漿：10 μ l）で測定可能
- すべての試薬が溶液タイプ
- 高い精度と再現性 CV値 5%未滿



標準曲線例



交差性

マウス、ラット高分子アディポネクチン	100%
ヒト高分子アディポネクチン	45%未滿
マウスアディポネクチン(Hexamer)	5%未滿
マウス、ラットアディポネクチン(monomer)、TNF- α 、インスリン、レプチン	検出限界以下

関連商品

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
637-10381	AKRLP-011	Lbis [®] Leptin-Mouse	96回用	58,000
630-12191	AKRLP-010	Lbis [®] Leptin-Rat(U type)	96回用	61,000
634-10391	AKMTN-011	Lbis [®] TNF- α Mouse	96回用	58,000
637-12581	AKRTN-010	Lbis [®] TNF- α Rat	96回用	58,000
632-07141	AKRRS-011	Lbis [®] Resistin Mouse	96回用	62,000
630-10371	AKRIN-011H	Lbis [®] Insulin-Mouse(H type)	96回用	48,000
633-10621	AKRIN-010H	Lbis [®] Insulin-Rat(H type)	96回用	45,000

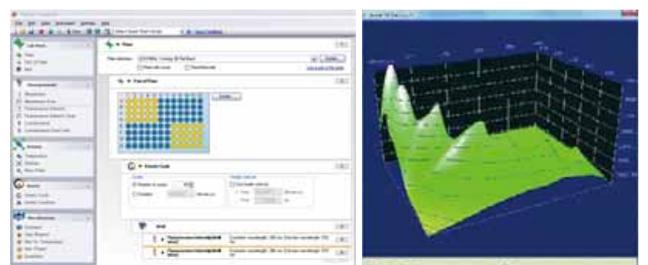
モノクロメーター方式マルチマイクロプレートリーダー ●TECAN. インフィニット M1000

インフィニット M1000は、ダブルモノクロメーター搭載のマルチタイプのマイクロプレートリーダーです。既存のインフィニット 200シリーズとインフィニット F500の検出システムを融合し、その柔軟性に加え、より高感度、高精度な測定が可能な装置です。



特長

- 波長選択
励起波長は230～850nm、蛍光波長は280～850nm、1nmステップで設定可能
半値幅は5～20nm、1nmステップで設定可能
(300nm以下は2.5～10nm、0.5nmステップで設定可能)
- 測定精度
高精度 premium quad 4モノクロメーター、分注量やプレートに合わせたオートフォーカス機能、オートゲイン機能により各種の蛍光色素を最適な条件で高感度に測定可能
- モジュール方式
蛍光（上方、下方）、吸光、発光、蛍光偏光、分注機、スタッカー、バーコード、1536ウェルプレート測定など必要な機能を自由に組合せ可能
- 柔軟性
 - ・ 簡単操作のi-Controlソフトウェアを標準装備
 - ・ 3D波長スキャンニングによる未知サンプルの波長特性の検出
 - ・ 分注機は3種類のシリンジサイズ（500、1,000、2,500 μ l）から選択、2台まで搭載可能



標準ソフト i-Control 設定画面

オプションソフト Magellan の3Dスキャンニングによる未知サンプルの同定

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
005-00430	インフィニット M1000-FL/T 蛍光上方測定	1台	7,335,000～

アルツハイマー病の研究に



β-セクレターゼ、ヒト、組換え体

β-セクレターゼは、細胞膜を貫通して存在するアミロイド前駆体タンパク質 (APP) からアミロイドβプロテイン (Aβ) を切り出す酵素です。切り出されたAβは、さまざまな要因により脳内に老人斑と呼ばれる異常蓄積物を形成します。そしてアルツハイマー病発症の引き金になると言われています。最近では、老人斑ではなく前段階のAβ

オリゴマーが悪影響を及ぼしているとの説もあります。

本品は、大腸菌で発現させたβセクレターゼの組換え体です。天然抽出物と比べて糖鎖修飾などが無く高純度に精製されていますので結晶構造解析などに有用です。また、リフォールディングにより酵素活性を保持していますので阻害剤のスクリーニングなどにもご利用いただけます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
199-15211	β-Secretase, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50μg	33,000

βアミロイドELISAキット Q&A



ご好評頂いておりますβアミロイドELISAキットについて、代表的な問合せをまとめました。使用時の参考として下さい。なお、商品リストや下記以外のQ&A、検体の保存安定性などについては当社ホームページをご参照下さい。
<http://wako-chem.co.jp/siyaku/info/life/article/betaamyloidELISAkit.htm>



Q1 : キット付属のスタンダードを希釈して検量線を作成したところ、得られたOD値が低く検量線が寝てしまいました。もう少し高いOD値で検量線を引けないのでしょうか？

A1 : 原因は、プレートの洗浄方法が考えられます。キットの標識抗体は非特異結合を減らすため、Fc部分を取り除きFab'化していますが、非特異結合が減少する反面、洗浄液中で抗体のアフィニティーが低下する現象が確認されています。そのため、必要以上の洗浄は行わないようにして下さい。

〈対策〉

1. 洗浄がプレートウォッシャーの場合、5回トータルの洗浄時間を2~3分くらいに設定して下さい。
2. 洗浄が手作業の場合、ピペットではなく洗瓶での洗浄をお勧めします。おおよそ30秒/回 (トータル2分30秒) で洗浄を終えることができます。
3. その他、洗浄液の温度を室温以下で使用するとOD値が高く出ます。
4. また、ヒトAβ (1-40) またはヒト/ラットAβ (40) をご利用の場合は、それぞれのIIキットを使用することもお勧めします。標識抗体がF(ab)'₂となっておりFabタイプのキットより標識抗体のアフィニティーが改善されています。

Q2 : 同じ検体をn=2で測定した時の測定値がバラツキます。また、ブランクウェルで発色することがあります。なぜでしょうか？

A2 : 標識抗体のアプライ方法が原因と思われます。標識抗体がプレートのウェル上部に付着してしまい洗浄操作で洗い落とせなかった場合、ブランクウェルの発色や同一サンプルのOD値が大きく異なることが確認されています。

〈対策〉

1. 標識抗体アプライ時にウェル底部へのアプライを心掛けて下さい。
2. 洗浄がプレートウォッシャーの場合、洗浄液量を最大に設定してウェル上部まで洗浄を行って下さい。プレートのウェル容積は400μlです。
3. 洗瓶で洗浄を行う場合、最初の2回は隣のウェルとサンプルが混ざらないように洗浄液を加え、残り3回は洗浄液を溢れさせてウェル上部の標識抗体を洗い流すように洗浄して下さい。

1909年の化学を顧みて

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

アボガドロ数が測定された

フランスの物理化学者 Jean Baptiste Perrin が乳香の小球の水中コロイド溶液の沈降速度の測定により、1モル中に存在する分子の数、すなわちアボガドロ数、またの名、ロシュミット数を 6.5×10^{23} と計算した^{1,2)}。今日では IUPAC で定めたその定数は 6.02252×10^{23} /モルとなっている。

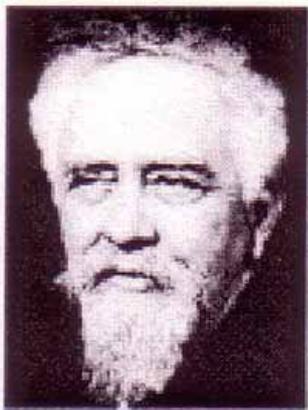


写真1. J. B. Perrin



写真2. F. Haber



写真3. K. Bosch

範囲に変化するのでイオン数の逆数の常用対数を pH の記号で示すことにしたのである。pH は *potentis hydrogenii* の略である。

なお Sørensen は一定の水素イオン濃度を維持する液を調製し、汽車を連結する緩衝器に因んで、緩衝液 *buffer solution* と名づけた。

空中窒素固定によるアンモニア合成の生産用途が立つ

Fritz Haber はこの年3月、Karl Bosch、Rabert Le Rosignol らの協力を得て、窒素と水素の混合ガスをオスミウム触媒下に175気圧、550°Cで反応させて8パーセントの取率でアンモニアを得ることに成功し、空中窒素固定によるアンモニアの工業的生産の用途が立った³⁾。

水素イオン濃度 pH が定義された

酵素反応における水素イオン濃度の測定を行ってその意義を考えていたデンマークの S. P. L. Sørensen が水素イオン濃度を表すのに、その指数 pH を用いることを提案した^{4,5)}。それは溶液中の水素イオン H^+ 濃度は非常に広

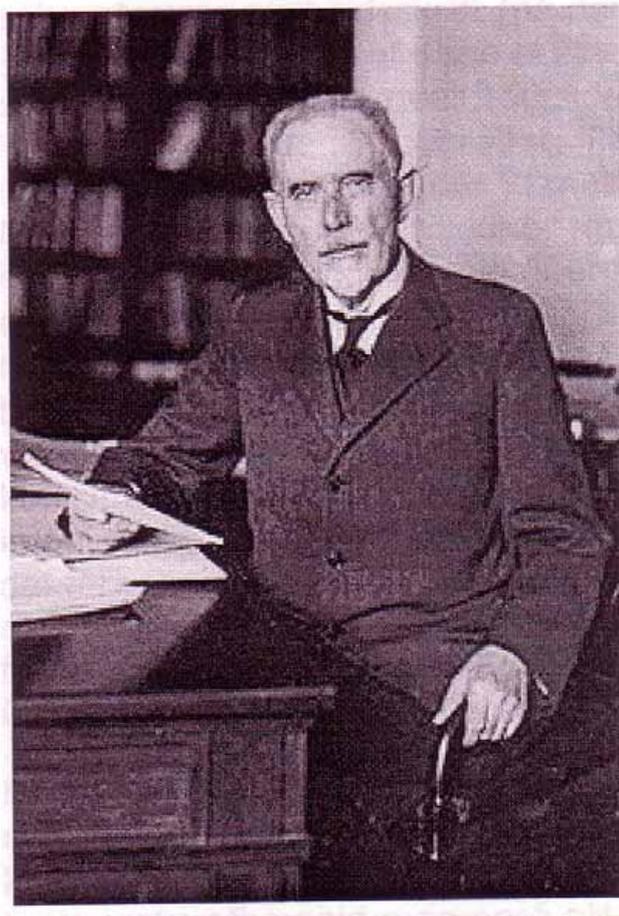


写真4. S. P. L. Sørensen

タングステンフィラメントが発明された

電球のフィラメントには、はじめ炭素繊維が用いられていたが脆くて長持ちしなかった。さりとて白熱した温度に耐える高い融点を持つ金属は高価で、また針金に引き伸ばすのが困難であった。1909年にアメリカの物理学者 William David Coolidge が 3410℃ の高融点を持つタングステンを極く細く引き伸ばすのに成功し、以後はタングステンフィラメントが広く電球に使用されるようになった。

ジュラルミンが発明された

ドイツの A. Wilm がアルミニウム 95%、マグネシウム 0.5%、銅 4.5% の画期的なアルミニウム合金を発明し、この年、ジュラルミン duralumin として特許申請された⁶⁾。この合金は 480–520℃ で焼き入れた後、室温に放置しておく、次第に硬度を増す現象を示した。その有用性は広く認められ、航空機材料としてなくてはならぬものとなり、さらに強力な超ジュラルミンの研究がこの後続いた^{7,8)}。

アルカロイド キニンの構造が明らかにされた

キニンはキナの樹皮に含まれるアルカロイドで、昔から解熱剤または強壮剤として、そしてマラリア熱病の特効薬として重用されてきた。その構造は P. Rabe により 1909 年にはじめて明らかにされた⁹⁾。NMR も MS もない時代に化学分解反応の結果から構造 (1) (原報記載) が提出された。その全合成は 1944 年になって R. B. Woodward、W. E. Doering により達成された¹⁰⁾。

最近になってこの Woodward らの形式的全合成に疑問が投げかけられ、A. C. Smith、R. M. Williams によって追試全合成が行われた結果、Rabe の

提出した式に誤りがないことが確認された^{11,12)}。

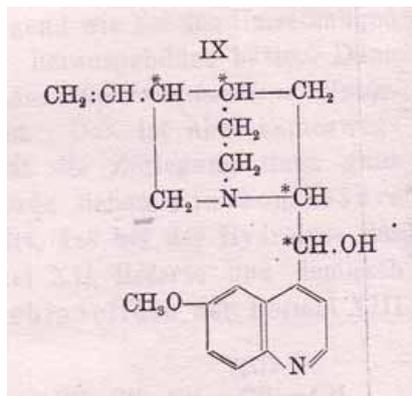


図 1. Rabe の原報にあるキニンの構造

ピクリン酸の合成法が見出された

R. Wolfenstein と O. Böter がベンゼンを硝酸水銀 (II) の存在下で硝酸と加熱して、ピクリン酸を得る反応を見出し、Wolfenstein-Böter 反応と呼ばれている。

貝紫が単離され、構造が決定された

P. Friedländer が 12,000 個のシリアカイツブリ *Murex brandaris* からはじめて 1.4 グラムの貝紫を単離してその構造を 6,6'-ジプロモインジゴと決定した。

核酸の構成糖としてリボースが発見された

P. A. T. Levene によって核酸からペントースであるリボースがはじめて分離同定された。その後、リボースを持つ核酸はリボ核酸 ribonucleic acid と呼ばれ、RNA の略号が通用するようになった。

糖のアノマーの命名法

C. S. Hudson の提案で、単糖類のアノマーで D-系列ではより右旋性のものを α -形、より左旋性のものを β -形

とすることになった。

Gene の名の起り

W. L. Johannsen が生物の遺伝子単位、すなわち転写される RNA 分子をコードする DNA 部分をはじめてジーン gene と命名した。

建染染料の発端

水に不溶の染料を還元剤で水溶性のロイコ型にして、繊維に染着し、空気に触れて酸化されてもとの不溶の染料を再生して染色することを建染といい、インジゴ、アントラキノン系の多数の建染染料がドイツの Farbwerke Hoechst (FH) 社から発売されたが、その発端となったのが 1909 年に Deinet が 1-アミノアントラキノンベンゾイル化してアルゴールエロー WG を得たのがその始めである。

合成ゴムの最初の特許が申請された

イソプレンを加熱すると固化することは 1860 年に報告されていた¹³⁾。この硬化現象は塩化水素¹⁴⁾により、また室温に放置¹⁵⁾するだけでも観察されていた。1909 年になって Bayer 社の F. Hofman がイソプレンの熱重合による合成ゴムの製造特許をはじめて申請した^{16,17)}。しかしそのポリイソプレンは十分な安定性はなく、また工業生産を実施するにはそのモノマーは高価でありすぎる状況であった。実用的な合成ゴムの製造は 1925 年頃から始まったブタジエン重合によるブナゴムの合成を待たねばならなかった¹⁸⁾。

短繊維スフが作られた

A. Pellerin がビスコースレーヨンから短繊維のステープルファイバー staple fiber 略称スフをつくり、天然繊維の不足に供された。

わが国で塩素酸カリウムの製造開発が行われた

マッチ工業の原料として必要な塩素酸カリウム KClO_3 が棚橋寅五郎により塩化カリウムの電解により製造された。

ふぐ毒が分離されテトロドトキシンと命名された

田原良純によりふぐの毒成分が単離され、テトロドトキシンと命名された。1964年になってその構造が平田ら、津田ら、Woodwardらの日米3グループにより同時に決定され、1972年に後藤、岸らにより全合成された。

調味料グルタミン酸ナトリウムの生産が始まった

味の素株式会社において、前年に得た特許に基づいて¹⁹⁾、はじめて小麦グルテンの塩酸加水分解によりL-グルタミン酸の工業的生産が開始され、世界最初のアミノ酸工業がわが国で始まった。

島津製作所でGS蓄電池が製作され、医療用エックス線装置が完成

島津製作所で標準型蓄電池を創業者島津源蔵の名の頭文字をとったGS蓄電池として製作、販売されるようになった。またこの年、直流発電を行う蓄電池を用いてわが国最初の医療用エックス線装置が完成された²⁰⁾。

化学会で桜井褒賞が制定された

東京化学会において桜井錠二の化学研究奨励資金によって、桜井褒賞が制定された。これは現在日本化学会賞に引き継がれている。

有機化学者E.エルレンマイヤーが逝去した

三角フラスコのエルレンマイヤーフラスコの名で知られるドイツのRichard August Carl Emil Erlenmeyer がこの年1月22日に83歳で逝った。イソ酪酸を発見し、チロシンを合成し、ナフタリンの構造を提出した。アルデヒドと馬尿酸からアズラクトンを経てアミノ酸を合成するエルレンマイヤー反応を見出した。

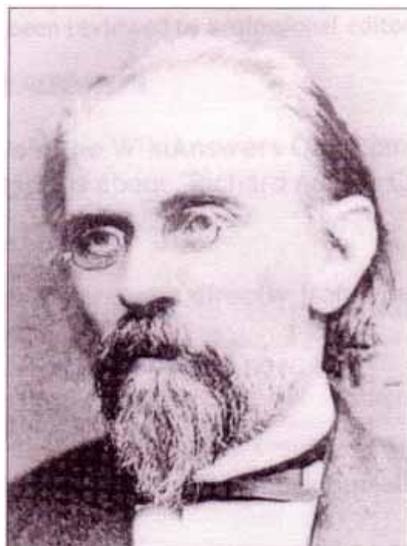


写真5. R. A. C. E. Erlenmeyer

熱化学研究者H. P. トムセンが没した

熱化学分野の研究を開発し、熱化学データから酸と塩基の親和力について研究したデンマークの化学者Hans Peter Thomsenが2月13日に82歳で死去した。

〔参考文献〕

- 1) Perrin, J.: *Compt. Rend.*, **149**, 477 (1909).
- 2) Perrin, J.: *Z. Elektrochem.*, **15**, 269 (1909).
- 3) 山本明夫: 化学史研究, **35**, 135 (2008).
- 4) Sorensen, S. P. L.: *Biochem. Z.*, **21**, 131, 352 (1909).
- 5) Sorensen, S. P. L.: *Compt Rend. Trav. Lab. Carlsberg*, **8**, 1 (1909).
- 6) Wilm, A.: *D. P. R.*, 244 554 (1909/1912).
- 7) Wilm, A.: *Mettallurgie*, **8**, 225 (1911).
- 8) Vogel, R.: *Z. Anorg. Allgem. Chem.*, **107**, 265 (1919).
- 9) Rabe, P.: *Ann. Chem.*, **365**, 353 (1909).
- 10) Woodward, R. B. and Doering, W. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 849 (1944).
- 11) Smith, A. C. and Williams, R. M.: *Angew. Chem., Int. Ed.*, **47**, 1736 (2008).
- 12) 内林政夫: 化学, **63** (5), 22 (2008).
- 13) Williams, C. G.: *Proc. Roy. Soc (London)*, **10**, 517 (1860).
- 14) Bouchardat, G.: *Compt. Rend.*, **89**, 1117 (1879).
- 15) Tilden, W. A.: *Chem. News*, **65**, 265 (1892).
- 16) Hofmann, F.: *D. R. P.*, 235 423 (1909/1911).
- 17) Hofmann, F.: *D. R. P.*, 250 690 (1909/1912).
- 18) Hofmann, F.: *Chemiker-Ztg.*, **60**, 693 (1936).
- 19) 芝哲夫: 化学と工業, **61** (8), 795; (9), 885 (2008).
- 20) 『島津製作所百年史』, 12, 20 (昭和60年).

メラミン及びメラミン関連化合物標準品

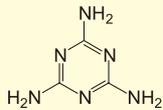


中国国内における乳及び乳製品へのメラミンの混入事案を受けて、日本での加工食品へのメラミン検出事例が問題になっています。

また、家畜用飼料やペットフードへのメラミン不正使用事案の発生も報告されています。

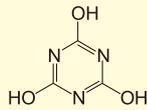
当社ではメラミン分析用標準品及び関連製品を取揃えています。ぜひご活用下さい。

■ メラミン



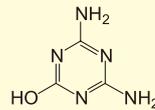
CAS No. : 108-78-1
C₃H₆N₆ = 126.12

■ シアヌル酸 (イソシアヌル酸)



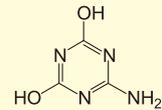
CAS No. : 108-80-5
C₃H₃N₃O₃ = 129.07

■ アンメリン



CAS No. : 645-92-1
C₃H₅N₃O = 127.10

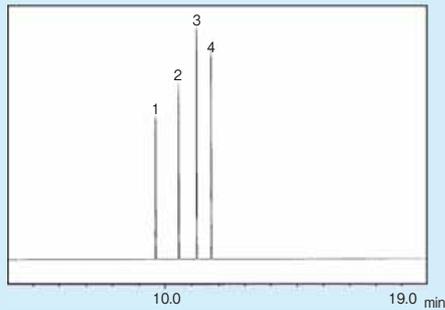
■ アンメリド



CAS No. : 645-93-2
C₃H₄N₄O₂ = 128.09

分析例

■ GC/MS分析例 (TMS誘導体化)

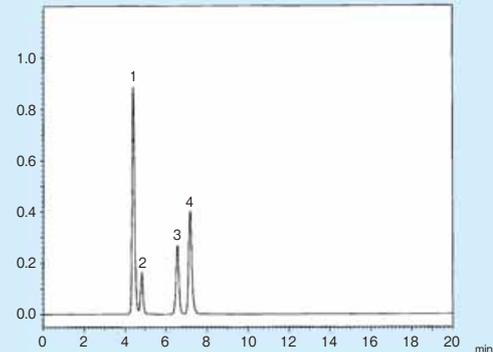


<GC/MS Conditions>

[GC]
Column : BPX-5 0.25 μm, 0.25mm×30m
Column Temp : 75°C(1min) → 15°C/min → 320°C(2.67min)
Injection : 280°C
Carrier Gas : He 1.00mL/min
Split Ratio : 1/30
Injection Volume : 1 μL

[MS]
Ionization Mode : EI
Interface : 290°C
Mode : SIM
Monitor Ion : 1) Isocyanuric Acid (m/z 345)
2) Ammelide (m/z 344)
3) Ammeline (m/z 328)
4) Melamine (m/z 342)

■ Wakosil 5NH₂を用いた分析例



<HPLC Conditions>

Column : Wakopak® Wakosil 5NH₂ (4.6×250mm), 40°C
Eluent : CH₃CN/5mmol/L NaH₂PO₄(pH 7.0) = 70 : 30(v/v)
Flow Rate : 1.0mL/min
Detection : UV210nm

Sample : 1) Melamine
2) Isocyanuric Acid
3) Ammelide(1mg/mL 0.1mol/L NaOH aq)
4) Ammeline(1mg/mL 0.1mol/L NaOH aq) each 0.1mg/mL
Injection Volume : 10 μL

コード No.	品名	規格 (メーカーコード)	容量	希望納入価格 (円)
132-15881	Melamine Standard	食品分析用	100mg	6,000
131-15971	Melamine- ¹⁵ N ₃ Standard	食品分析用	10mg	近日発売
513-28481	Melamine (¹³ C ₃ , 99%; ¹⁵ N ₃ , 98%) 95%, 100 μg/mL in Water	(CIL社 CNLM-8150-1.2)	1.2mL	87,500
091-05311	Isocyanuric Acid Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	6,000
516-28471	Cyanuric Acid (U- ¹³ C ₃ , 99%; U- ¹⁵ N ₃ , 98%), 100 μg/mL in Water	(CIL社 CNLM-4661-1.2)	1.2mL	93,750
012-22041	Ammeline Standard	食品分析用	100mg	10,000
019-22051	Ammelide Standard	食品分析用	100mg	10,000

関連商品

■ GC/MS分析関連商品

コード No.	品名	規格 (メーカーコード)	容量	希望納入価格 (円)
047-01773	Diethylamine (DEA)	和光特級	25mL	1,200
041-01776			500mL	1,750
161-18453	Pyridine, Dehydrated	有機合成用	100mL	2,500
167-18455			500mL	7,500
043-16785	Distilled Water	—	500mL	850
047-16783			2L	2,500
528-31203	BSTFA + 1% TMCS	(Pierce社 38831)	1mL × 10	21,300
043-22432	2,4-Diamino-6-chloropyrimidine	和光一級	25g	5,700
045-22431			100g	16,800

キャピラリーカラム

コード No.	品名	メーカーコード	容量	希望納入価格 (円)
520-46871	30m×0.25mm ID-BPX5 0.25 μm	(SGE社 054101)	1本	78,600

■ HPLC分析関連商品

分析カラム

コード No.	品名	カラムサイズ	カラムタイプ	容量	希望納入価格 (円)
238-57691	Wakopak® Wakosil 5NH ₂	4.6 × 250mm	デュボン(D)	1本	50,000
234-57693			ウォーターズ(W)	1本	50,000

HPLC用溶媒

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
046-16971	Distilled Water	高速液体クロマトグラフ用	1L	1,300
042-16973			3L	2,400

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. 77 No. 1

2009年1月15日発行

発行責任者 三浦正寛

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

●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

■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 49-2131-3111-0 / Fax 49-2131-311100