

## 〔総説〕

- 「再生医療研究のための細胞起源同定システム」  
 日下部 守昭 …… 2
- 「フェニルプロピオン酸スキャットホルドを用いた核内受容体 PPAR アゴニストの創製」  
 宮地 弘幸 …… 14
- 〈生薬のはなし〉  
 「ガジュツの類」  
 木村 孟淳 …… 12
- 〈テクニカルレポート〉  
 「フライ油およびフライ食品用カルボニル価測定法の開発」  
 遠藤 泰志 …… 6
- 「抗 Argonaute 抗体を用いた microRNA 研究ツールの紹介」  
 西部 隆宏、請川 亮、林田 幸信、黒川 勉 …… 8

## 〔化学大家〕

- 「レイ・パストゥール」  
 島尾 永康 …… 28

## 〔製品紹介〕

### 有機合成

- 超脱水溶媒シリーズ …… 17
- パラジウム - 活性炭素ジフェニルスルフィド複合体 …… 18
- シンコニジン修飾パラジウム - 活性炭素 …… 19

### 環境・分析

- カルボニル価測定用「1-ブタノール」 …… 7
- 生薬試験用試薬 クルクミン類 …… 13
- TRM (Traceable Reference Material) …… 19
- プレセップ® ポリキレート …… 20
- 食品分析用標準品 …… 21
- トランス脂肪酸 …… 32

### 遺伝子

- microRNA 研究 関連製品 …… 11
- 5-フルオロオロチン酸 DMSO 溶液 …… 27
- エチプロデストロイヤー …… 27

### 細胞生物・生化学

- 抗 CSA, モノクローナル抗体 …… 5
- PPAR $\alpha$ / $\delta$ / $\gamma$  アゴニスト「TIPP-703」 …… 16
- 骨吸収阻害剤「アレンドロン酸ナトリウム三水和物」、  
 「リセドロン酸ナトリウムn水和物」 …… 21
- 抗マウス Sema4A, モノクローナル抗体、  
 抗マウス Sema4D/CD100, モノクローナル抗体 …… 22
- イオンチャンネル作用物質 …… 23
- $\alpha$ -マンゴスチン …… 23
- MALDI-MS 用キャリブラント …… 24
- 高純度マトリックス、ゲル内消化酵素、MS 用染色キット …… 25
- 老人斑選択的蛍光プローブ「BF-168」、  
 神経原線維変化選択的蛍光プローブ「BF-170」 …… 26

## 〔お知らせ〕

- 試作品のご案内『尿素入り変性ポリアクリルアミドゲル』 …… 26

### 1 はじめに

多細胞生物における組織機能の恒常性（ホメオスタシス）のために、各臓器の機能単位である上皮細胞とその周囲間質細胞の細胞間相互作用は重要な役割を果たしている。特に、発生過程における細胞の増殖・分化、がんの浸潤・転移や、創傷治癒過程組織における遺伝子発現調節は、その細胞を取り巻く組織微小環境（ニッチ）によって調整されていることは周知の事実である。また、再生医療においてES細胞、iPS細胞や骨髄間葉系幹細胞などを分化させた細胞を用いて臓器を形成させ生体に移植した場合、移植された細胞は、生体内で安定した臓器として存在する必要がある。またこの時、移植組織が生着して組織として機能しているのか、残存したホストの組織が移植組織の組織微小環境を利用して再生したのかなどを明確にする必要がある。その為、幹細胞から分化誘導した細胞が、生体内でどのような状態で存在しているかを、組織学的に詳細に解析することが重要である。

筆者は、以前より発生初期の臓器原基上皮細胞の分化は、それを取り巻く間充織に依存しており、組織微小環境が変わるとその上皮の予定運命が変わることを示してきた<sup>1)</sup>。その際、分化誘導された細胞の起源を同定する必要があるため、マウス系統特異抗原を遺伝マーカーとして用いることのできる細胞起源同定法を確立して、分化誘導された上皮細胞の起源を同定してきた。更に、この解析系をキメラマウスに 응용して、組織幹細胞を中心とした細胞増殖単位の解析<sup>2)</sup>やミュータントマウスと正常マウス間キメラマウスによる遺伝子発現のエピジェネティクス研究を行ってきた<sup>3-11)</sup>。本稿では、筆者らが開発したCSA抗原に対する抗体を用いた細胞起源同定法とこの遺伝マーカーを持つコンジュニックマウス

系統について紹介したい。

### 2 実験用マウスの系統特異的遺伝マーカーによる幹細胞の研究

臓器の生理学的且つ形態学的な恒常性のためには、組織幹細胞を中心とした細胞増殖単位による細胞再生系が重要である。幹細胞の非対称細胞分裂によって、組織には新しい細胞が供給され組織の特異形態と機能が維持されている。この時、この幹細胞から供給される細胞の全てが同じ遺伝マーカーを発現すれば幹細胞からの細胞系譜を明らかにすることができる。Schmidtら<sup>12)</sup>およびPonderら<sup>13)</sup>は、遺伝的に独立した細胞によって構成されるキメラマウスの小腸を、系統によって発現の異なるDBAレクチン (*Dolichos*

*Biflorus* Agglutinin) 反応性分子をマーカーにして小腸のキメリズムを解析した。その結果、各クリプトは、クリプト底部に存在する一つの幹細胞に由来していることを報告している。その他の細胞マーカーとして、 $\beta$ -ガラクトシダーゼやGFP (green fluorescent protein) 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスなどが開発され利用されている。しかしながら、導入された遺伝子の発現が、何らかの理由で不安定となり、細胞内で蛋白は発現するがGFPの蛍光の消失やガラクトシダーゼ酵素活性の消失が起こるケースもある。この問題解決のため、 $\beta$ ガラクトシダーゼやGFPに対する抗体を用いた免疫組織化学によってトランスジェニックマウス由来細胞の同定が行われる場合もある。また、

表1. 細胞同定マーカーとしての基準

1. 標的分子は、細胞内に限局しており、分泌されない。
2. 細胞自律的なものであり、隣接する細胞には移行しないし、影響しない。
3. 最初に発現した細胞が増殖した後も全ての細胞に安定して発現している。
4. 発生過程を通して体を構成する全ての細胞に発現している。
5. 組織レベルで容易に検出できる。
6. マウス系統間で遺伝的バリエーションが存在する。
7. 発生過程を通して細胞分化や細胞混成に影響しない。

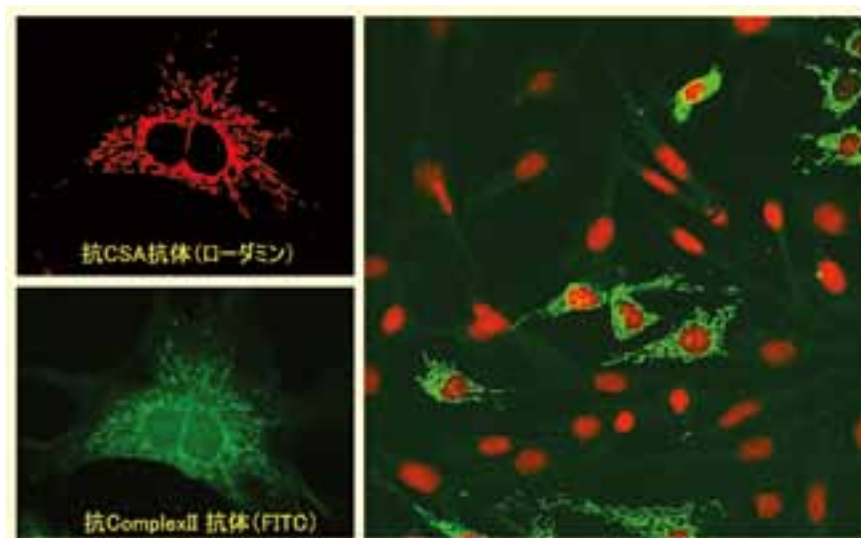


図1. 抗CSA抗体による細胞の免疫染色像

抗Complex II抗体(左下図)と抗CSA抗体(左上図)による二重染色によって、CSA分子は細胞内のミトコンドリアに局在していることが示された。また、キメラマウス尾の線維芽細胞の初代培養では2系統の細胞が混在していることが分かる(右図)。

雄マウスの特徴であるY染色体をマーカーにしている報告もなされているが、雌雄の細胞が個体内で共存することで、性ホルモンへの応答の違いが細胞の挙動に影響することは十分に考えられる。

筆者らは、表1に示す基準を満たすものとして抗CSA抗体を用いた細胞起源同定法を開発した<sup>1,2)</sup>。CSA (C3H Specific Antigen、現在のHspa9遺伝子) は、C3H系統マウスで発見したマウス系統特異抗原である<sup>14,15)</sup>。この遺伝子は近交系マウスにおいて2つのバリエントが存在することが分かっている。抗原蛋白は、ミトコンドリアに存在(図1)するが、遺伝子はゲノム上に存在し、全ての細胞で発現が認められている。今までにこの抗CSA抗体を用いて以下の研究を行ってきた。まず、胎仔顎下腺間充織が下垂体原基上皮の分化予定運命を変えて顎下腺様の組織へと分化誘導した実験で、分化した細胞は間違いなく下垂体由来の細胞であることを証明した<sup>1)</sup>。また、キメラマウスを用いた細胞系譜および細胞増殖単位の解析<sup>2)</sup>を行い組織幹細胞による増殖パターンを明らかにした。例えば、図2に示すように、成獣になるとクリプト毎に単一の幹細胞からの細胞供給によって組織形態を維持している様であるが、小腸組織の形態形成時において幹細胞を中心とした細胞の広がりにより一定の法則は見出されない。また、発育途中(生後20日)ではキメリックなクリプトが存在することは、大変興味深い所見である。更に、各種ミュータントマウスと正常マウス間キメラマウスの解析から、遺伝子発現には、細胞自律型と微小環境依存型があることを証明した<sup>3-11)</sup>。例えば、図3に示すように、神経異常マウスのリーラーマウス $\leftrightarrow$ 正常マウスキメラの小脳は正常形態形成を行い、行動も正常化する。そこで抗CSA抗体によって小脳のキメリズムを解析したところ、リーラーマウス由来のプルキンエ

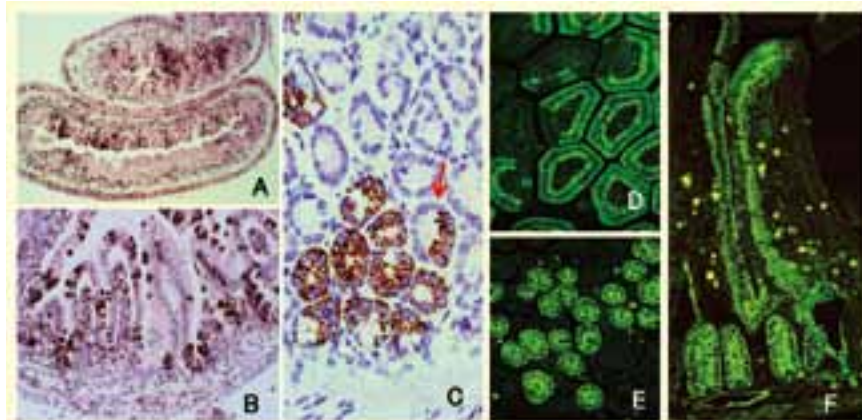


図2. 小腸の形態形成過程におけるキメリズムの変化

胎生14日の小腸の上皮(A)は、まだ絨毛が形成されていないが、胎生17日(B)になるとクリプトと絨毛が形成される。しかし、キメリズムをみると、明確な細胞増殖単位の形成は観察できない。生後20日目(C)では、成獣と同じような形態形成が見られるが、キメリックなクリプトも観察される(赤矢印)。成獣(D-F)になると単一幹細胞からの細胞供給で形成されたクリプト(E)とその細胞の流れで形成されている絨毛(D)が観察できる。縦切り切片(F)ではクリプトから絨毛への細胞の流れが観察できる。

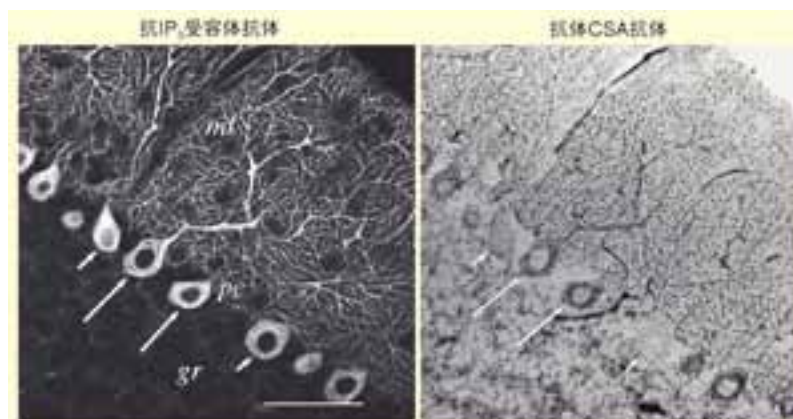


図3. リーラーマウス(陽性) $\leftrightarrow$ BALB/cA(陰性)キメラマウス小脳の免疫染色による細胞構成の解析

リーラーマウス $\leftrightarrow$ 正常マウス間キメラ小脳の隣接切片を、抗IP<sub>3</sub>受容体抗体(左)と抗CSA抗体によって免疫染色したものである。小脳の層構造は正常に形成されているが、リーラー由来のCSA陽性細胞(長矢印)が、正常由来の陰性細胞(短矢印)と共に正常な位置に配列している。(本写真は、参考文献9より転載)

細胞も少数の正常グリア細胞の支持によって正常な小脳の層構造を形成することを示した。その他、がんにおけるクローナリティ研究<sup>16-22)</sup>や、再生医療研究として、移植されたマウス新生仔肝細胞がホスト肝臓に生着することを示してきた<sup>23-25)</sup>。

胞などの幹細胞を用いた臨床応用において必要なことは、移植した細胞の生体内における挙動を詳細に把握することであり、また、それらの組織が、一時的に働くだけでなく、長期に渡って生体内に存在し機能し続けることが出来ることを、組織学的に明確に証明することであると考えられる。

### 3 今後の再生医療に求められること

ES細胞、iPS細胞や骨髄間葉系幹細胞

### 4 本システムの応用分野について

本システムは、表2にまとめたよう

表2. 本システムの応用分野

研究分野	用途	研究
再生医療	再生医療基礎研究における移植細胞の組織構造と起源同定が観察できます。	◆骨髄未分化間充織細胞の各種細胞への分化研究 ◆神経幹細胞の移植研究の解析 ◆未分化胚性幹細胞の分化誘導研究
発生生物学	細胞系譜研究における細胞起源の同定ができます。	◆キメラマウスを用いた遺伝子機能発現評価法 ◆組織・器官形成時における細胞再生系研究
がん研究	がんの浸潤・転移におけるがん組織と正常組織間の相互作用の解析に用いることができます。	◆発がんにおける細胞間相互作用の研究 ◆がん組織のクローン性研究 ◆がん幹細胞の研究

な分野での利用が考えられる。細胞分化に関連する発生生物学やがん研究の他、再生医療研究における個体レベルでの研究に用いることのできるシステムである。

## 5 本システムの構成

本細胞起源同定システムは、認識用抗体、ES細胞および各コンジェニック系統マウスからなり、自由な組み合わせで多様な研究に用いることができる。以下に各要素について簡単に説明する。

### 5-1. マウスモノクローナル抗体 (抗CSA抗体)

本抗体は、ES細胞、iPS細胞や骨髄間葉系幹細胞などを用いた再生医療に関する基礎的研究に用いることができ、移植した細胞由来の全ての細胞種を宿主組織内で同定できる。本抗体の認識する抗原は、全マウス系統の全組織で常時発現している熱ショック蛋

白 (Hspa9) であり、例えばC3H系統とDBA1系統マウス系統の持つ一つのバリエーションが抗CSA抗体に認識される抗原である。また、細胞分化やがん化において発現が消失することはない。更に、高価な遺伝子組換え実験を行う必要も無く、組織学レベルで安定した解析結果を得ることができる。

### 5-2. 陽性バリエーションを発現する系統由来の胚性幹細胞

抗体陽性バリエーションを発現している近交系マウス系統から樹立したES細胞株 (C3H系統およびDBA1系統由来ES細胞) である (図4)。本細胞を用いたキメラマウスからはこの細胞由来の個体が誕生しており、本ES細胞は生殖細胞に分化して個体形成に至ることは分かっている。また、この細胞株は遺伝的に近交系より樹立されているので、均一な遺伝背景を持っている。図4は、このES細胞を移植して分化させたときの各組織を抗CSA抗体によって免疫染色した組織像である。分

化した上皮系および間葉系細胞が陽性に染色されている。

### 5-3. BALB/cA<sup>CSA</sup> コンジェニックマウスおよびC57BL/6N<sup>CSA</sup> コンジェニックマウス

将来的な再生移植医療に向けて、更に精力的な個体レベルでの研究が重要である。そのため、遺伝背景を均一にした近交系マウスを用いた研究が必要である。BALB/cA<sup>CSA</sup> (またはC57BL/6N<sup>CSA</sup>) コンジェニックマウス系統は、上記抗体が認識するC3Hタイプのバリエーション遺伝子を戻し交配によって導入して樹立したコンジェニック系統である。このマウスは、繁殖率も良く、母系統であるBALB/cA (またはC57BL/6N) 系統との間では、特別な処理を施すことなく相互の組織・細胞の移植が可能である。また、BALB/cA<sup>CSA</sup> コンジェニック系統にヌード遺伝子を導入したBALB/cA<sup>CSA</sup>・nuダブルコンジェニックマウスも樹立済みであり、ヒト細胞の移植と細胞間相互作用の研究が可能となっている。

### 5-4. C3H/HeN<sup>BaCSA</sup> コンジェニックマウス

この系統は、本来抗体陽性系統であったC3H系統にBALB/cAのCSAバリエーション遺伝子 (仮称 BaCSA) を戻し交配によって導入したマウス系統である。このマウスへは、C3H由来のES細胞を移植した場合、同系コンジェニックマウスであるので移植片の免疫的拒絶は起こらず、長期に渡って移植細胞が生体内に生存できる。

## 6 おわりに

本稿では、筆者が長年取り組んできた細胞間相互作用の研究のためのツールとして「細胞起源同定法」を紹介させていただいた。現在では、GFP発現細胞やGFPトランスジェニックマウスを用いた研究が多いが、上述のように、

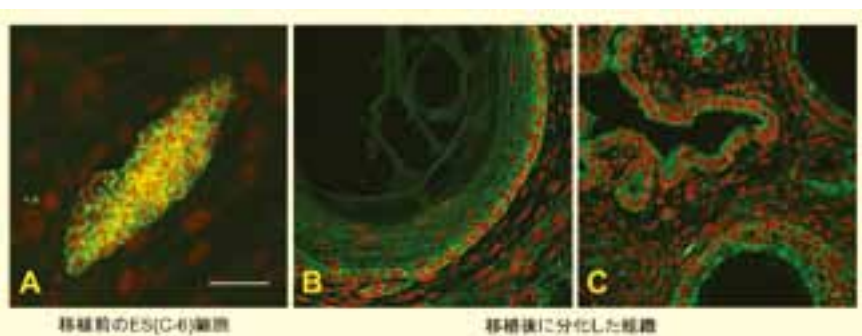


図4. ES細胞を移植して分化させた組織の抗CSA免疫染色像

ES細胞は、抗CSA抗体で陽性に染色されるが、BALB/c由来のフィーダー細胞は、陰性であった(A)。

抗CSA抗体によってES細胞由来の細胞が陽性に染色されているのが分かる。上皮細胞も間質細胞も陽性に染色されている(B,C)。

今後の再生医療では、ES細胞、iPS細胞や骨髄間葉系幹細胞などの幹細胞を用いた臨床応用において必要なこととして、移植した細胞の生体内における挙動を詳細に把握することであり、また、それらの組織が、一時的に働くだけでなく、長期に渡って生体内に存在し機能し続けることが出来ることを組織学的に証明することと考える。その意味で本同定法が、コンジェニックマウスを含めて広く利用されることを期待したい。

#### 【参考文献】

- 1) Kusakabe, M., Sakakura, T., Sano, M. and Nishizuka, Y. : *Devel. Biol.*, **110**, 382-391 (1985).
- 2) Kusakabe, M., Yokoyama, M., Sakakura, T., Nomura, T., Hosick, L. H. and Nishizuka, Y. : *J. Cell Biol.*, **107**, 257-265 (1988).
- 3) Yoshiki, A., Hanazono, M., Oda, S.-I., Wakasugi, N., Sakakura, T. and Kusakabe, M. : *Development*, **113**, 1293-1304 (1991).
- 4) Yoshiki, A., Moriwaki, K., Sakakura, T. and Kusakabe, M. : *Devel. Growth Diff.*, **35**, 271-281 (1993).
- 5) Yoshiki, A., Sakakura, T. and Kusakabe, M. : *J. Histochem. Cytochem.*, **41**, 1583-1590 (1993).
- 6) Dvorak, P., Dvorakova, D., Yoshiki, A., Ohashi, T., Kitamura, K. and Kusakabe, M. : *Int. J. Devel. Biol.*, **39**, 511-517 (1995).
- 7) Dvorak, P., Yoshiki, A., Dvorakova, D., Flechon, J.-E. and Kusakabe, M. : *Int. J. Dev. Biol.*, **39**, 645-652 (1995).
- 8) Kitani, H., Takagi, N., Atsumi, T., Kawakura, K., Imamura, K., Goto, S., Kusakabe, M. and Fukuta, K. : *Zoological Science*, **13**, 5865-5871 (1996).
- 9) Yoshiki, A. and Kusakabe, M. : *Int. J. Dev. Biol.*, **42**, 695-700 (1998).
- 10) Lipschutz, J. H., Fukami, H., Yamamoto, M., Tatematsu, M., Sugimura, Y., Kusakabe, M. and Cunha, G. : *Cells Tissues Organs*, **165** (2), 57-66 (1999).
- 11) Noguchi, M., Niwa, K., Kasai, T., Tsunesada, M., Sasaoka, Y. and Kusakabe, M. : *J. Reprod. Develop.*, **4**, 71-72 (2000).
- 12) Schmidt, G. H., Wilkinson, M. M. and Ponder, B. A. : *Cell*, **40** (2), 425-429, (1985).
- 13) Ponder, B. A., Schmidt, G. H., Wilkinson, M. M., Wood, M. J., Monk, M. and Reid, A. : *Nature*, **313** (6004), 689-691 (1985).
- 14) Michikawa, Y., Baba, T., Arai, Y., Sakakura, T. and Kusakabe, M. : *BBRC*, **196**, 223-232 (1993).
- 15) Michikawa, Y., Baba, T., Arai, Y., Sakakura, T. and Kusakabe, M. : *FEBS letter*, **336**, 27-33 (1993).
- 16) Lee, G. H., Nomura, K., Kanda, H., Kusakabe, M., Yoshiki, A., Sakakura, T. and Kitagawa, T. : *Cancer Res.*, **51**, 3257-3260 (1991).
- 17) Tatematsu, M., Fukami, H., Yamamoto, M., Kakanishi, H., Masui, T., Kusakabe, M. and Sakakura, T. : *Cancer Letters*, **83**, 37-42 (1994).
- 18) 立松正衛、稲田健一、中西速夫、増井恒夫、日下部守昭：消化器癌，**6** (1), 31-35 (1996).
- 19) Tatematsu, M., Masui, T., Fukami, H., Yamamoto, M., Nakanishi, H., Inada, K., Kusakabe, M. and Sakakura, T. : *Int. J. Cancer*, **66**, 234-238 (1996).
- 20) Tatematsu, M., Masui, T., Fukami, H., Yamamoto, M., Nakanishi, H., Inada, K., Fujimitsu, Y. and Kusakabe, M. : *Carcinogenesis*, **17**, 1365-1371 (1996).
- 21) Tsukamoto, T., Inada, K., Fukami, H., Yamamoto, M., Tanaka, H., Kusakabe, M., Bishop, C. E. and Tatematsu, M. : *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**, 665-673 (2000).
- 22) Tsukamoto, T., Yamamoto, M., Fukami, H., Yoshikawa, A., Sakai, H., Hirata, H., Kusakabe, M. and Tatematsu, M. : *Cancer Letter*, **239** (2), 205-211 (2006).
- 23) Taniguchi, H., Kondo, R., Suzuki, A., Zheng, Y., Ito, S., Takada, Y., Fukunaga, K., Seino, K., Yuzawa, K., Otsuka, M., Fukao, K., Yoshiki, A., Kusakabe, M. and Nakauchi, H. : *Transplant Proc.*, **31** (1-2), 454 (1999).
- 24) Suzuki, A., Zheng, Y. W., Kondo, R., Kusakabe, M., Takada, Y., Fukao, K., Nakauchi, H. and Taniguchi, H. : *Hepatology*, **32** (6), 1230-1239 (2000).
- 25) Suzuki, A., Taniguchi, H., Zheng, Y. W., Takada, Y., Fukunaga, K., Seino, K., Yanawa, K., Otsuka, M., Yoshiki, A., Kusakabe, M., Fukao, K. and Nakauchi, H. : *Transplant Proc.*, **32** (7), 2370-2371 (2000).

## Products



### 再生医療分野の研究に

#### 抗CSA, モノクローナル抗体

抗原：C3H/HeN筋肉粗抽出液のGPI活性分画

精製：腹水をProtein Gアフィニティークロマトグラフィによって精製

クローンNo.：17-6C3

サブクラス：IgG $\gamma$ 1 $\cdot$  $\kappa$

形状：PBS(-) (pH 7.2) and 0.1% Sodium Azide

特異性：Hspa9のC3Hバリエントを認識する。

C3H/He及びC3Hを遺伝背景とするコンジェニックマウス、DBA1及びSM/Jが陽性系統である。また、BALB/cA、C57BL/6のCSAコンジェニックも陽性系統である。

濃度：1mg/ml

使用濃度：免疫組織染色 $\cdot\cdot$ 1 $\sim$ 5 $\mu$ g/ml

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
015-21791	Anti CSA, Monoclonal Antibody	免疫化学用	100 $\mu$ g	54,000

## フライ油およびフライ食品用カルボニル価測定法の開発

東京工科大学応用生物学部 遠藤 泰志

### 1 はじめに

フライ調理は、180℃付近の高温で加熱するため短時間で調理ができること、並びに油脂が熱媒体として作用するため局所的な過熱がない等の利点を有することから、優れた調理法として、ファーストフードやそうざいをはじめ加工食品の製造に良く利用されている。しかし、フライ調理では、油脂中で熱酸化や加水分解、重合といった複数の劣化反応が同時に起こる。中でも、空気中の酸素による酸化劣化は、油脂中の不飽和脂肪酸からヒドロペルオキシドの生成を経て様々な二次酸化生成物を生じる。とくに、カルボニル化合物の生成は、不快な臭いを呈するだけでなく、味の劣化や毒性を示す。そのため、フライ食品の安全性を確保するため、フライ油の品質をチェックすることになっている。厚生労働省の弁当およびそうざいの衛生規範において、フライ油の化学特数である酸価が2.5、あるいはカルボニル価が50を超えたフライ油については、新しい油と交換することが望ましいとされている。しかし、現在のカルボニル価測定法では、発癌性を有するベンゼンを溶剤に使用するため、実際の食品製造現場では利用されていないのが実状である。

そこで筆者らは、ベンゼン以外の溶剤として、2-プロパノール<sup>1,2)</sup>や1-ブタノール<sup>3)</sup>を用いたフライ油用のカルボニル価測定法の開発を行い、従来法と同等の精度と感度を得ることができた。本稿では、この測定法についてフライ食品にも応用したので、その結果を紹介する。

### 2 フライ油用カルボニル価 (ブタノール法)

筆者らが開発したカルボニル価 (ブタノール法) は、現在、(社) 日本油化学会の基準油脂分析試験法の暫定法

13-2003<sup>4)</sup> に採用されているが、その原理は、従来法と変わりはない (図1)。油脂中に含まれるカルボニル化合物を酸性下で2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応させた後、生じた2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンを、塩基性下でキノイドイオンの形態にして、可視部 (420 nm) の吸収を測定するものである。従来法は、ベンゼン中でこの反応を行うのに対し、新法では、毒性の弱い1-ブタノール中で上記の反応をすべて行う。また、従来法では、標準物質が無かったが、新法では、フライ油のカルボニル化合物の主な成分である2-デセナールを標準物質に用いて、カルボニル化合物の総量を2-デセナール相当量として表す。なお、新法では、試験管1本ですべての反応を行うため、使用する溶剤が従来法よりも半分以下で済む他、多検体の測定が可能になるなど大幅に改善された。

### 3 フライ食品用カルボニル価 (抽出・測定一体型測定法)

フライ食品の安全性を図るため、フライ油のカルボニル価の測定が推奨されているが、実際に食すのはフライ食品であり、フライ食品のカルボニル価を測定する必要がある。これまで、揚げかまぼこや揚げ菓子など多くのフライ食品のカルボニル価が測定されている<sup>5,6)</sup>。一般にフライ食品のカルボニ

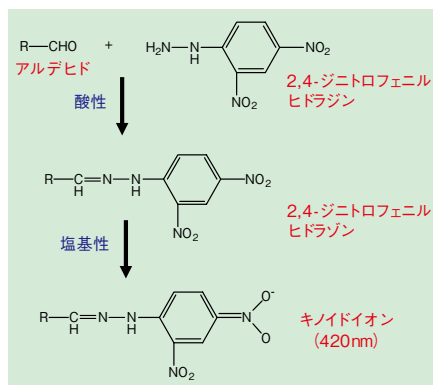


図1. カルボニル価の測定原理

ル価を測定するには、まずエーテルやクロロホルム/メタノール混合液で油脂を抽出し、溶剤を濃縮させて得た油脂についてカルボニル価を測定する。そのため、油脂の抽出・濃縮操作に時間がかかり、多検体の測定が困難であった。そこで筆者らは、抽出溶剤に測定溶剤と同じ溶剤を用いた抽出・測定一体型測定法の開発を試みた。

フライ食品に1-ブタノール/ヘキサン混合液 (1:1) を加えて油脂を抽出し、その抽出液を試料溶液としてカルボニル価 (ブタノール法) を測定した (図2)。フライ食品としては、市販の揚げせんべい、即席めん、かりんとう、ドーナツなどを用いた。その結果、抽出溶剤に1-ブタノール/ヘキサン (1:1) 混合液を用いても油脂の抽出効率はエーテルの場合と同等であった。市販のフライ食品のカルボニル価は、数10～数100 μmol/100gと種類によって異なる値を示したものの、エーテルで油脂を抽出してから、油脂のカルボニル価を測定した場合と、1-ブタノール/ヘキサン (1:1) 混合液で抽出した溶液を測定したカルボニル価は同じ値を示し、その有効性が確認された (表1)。さらに、この抽出・

#### 〈試料溶液〉

フライ油: 1-ブタノール10 mL中に油脂50~500 mg  
 フライ食品: 1-ブタノール/ヘキサン (1:1) 100 mLで  
 試料5 gまたは10 gを粉砕、ろ過後のろ液

#### 〈測定方法〉

試料溶液 (または2-デセナール標準溶液) 1 mL

↓ 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液 1 mL

加熱 (45℃, 20分)

↓ 常温まで冷却

↓ 8%水酸化カリウム溶液 8 mL

↓ 遠心 (3,000 rpm, 5 min)

↓ 吸光度 (420 nm) 測定

検量線を作成し、試料溶液の吸光度から  
2-デセナール量を算出する。

カルボニル価 (μmol/g) = A/S

A: 試料溶液の吸光度から求めた

2-デセナール量 (μM)

S: 試料溶液1 mL中の油脂量 (mg)

図2. フライ油およびフライ食品用カルボニル価測定法

測定一体型カルボニル価測定法を、室内に放置した際の揚げせんべいに応用したところ、揚げせんべいの自動酸化による劣化の程度を評価することができた(表2)。

## 4 おわりに

近年、ファーストフードやそうざい、冷凍食品の消費が増加するにつれ、フライ食品の消費も伸びている。フライ食品の安全性を図る上で、フライ油の品質を評価することになっているが、フライ食品自体の品質評価には至っていない。筆者らが開発したフライ油用カルボニル価は既に公定法に採用されたが、今回、フライ食品用カルボニル価の測定法の開発を行った。この抽出・測定一体型カルボニル価測定法は、操作が単純であり、かつ操作時間も短いので、多検体のフライ食品の品質を測定するのに適していると考えられる。本法が実際のフライ食品の製造現場で導入されることを期待する。

表1. フライ食品のカルボニル価

フライ食品	脂質含量 (g/100g)		カルボニル価 ( $\mu\text{mol}/100\text{g}$ )	
	エーテル抽出	抽出・測定一体型	エーテル抽出	抽出・測定一体型
揚げせんべい	34.0	34.4	455	454
即席めん	14.2	14.4	60	58
かりんとう	17.4	17.6	300	297
ドーナッツ	22.3	22.4	285	290

### 【参考文献】

- 1) Endo, Y., Li, C.-M., Tagiri-Endo, M. and Fujimoto, K.: "A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent.", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**, 1021-1024 (2001).
- 2) Endo, Y., Li, C.-M., Fujimoto, K., Tagiri-Endo, M., Tooyama, K. and Usuki, R.: "Estimation of the deterioration of frying oil used for fishery products by the carbonyl value using 2-propanol as a solvent.", *Nippon Suisan Gakkaishi*, **69**, 80-81 (2003).
- 3) Endo, Y., Tominaga, M., Tagiri-Endo, M., Kumozaki, K., Kouzui, H., Shiramasa, H. and Miyakoshi, K.: "A modified method to estimate total carbonyl compounds in frying oils using 1-butanol as a solvent." *J. Oleo Sci.*, **52**, 353-358 (2003).
- 4) 基準油脂分析試験法 暫定法13-2003: カルボニル価 (ブタノール法), 日本油化学会編 (2003).

表2. 揚げせんべいの自動酸化 (室温放置)

自動酸化	カルボニル価 ( $\mu\text{mol}/100\text{g}$ )	
	エーテル抽出	抽出・測定一体型
0日目	478	473
7日目	508	505
14日目	545	537
21日目	581	587

- 5) 遠藤美砂子、薄木理一郎、江口万里江、佐藤由紀、千葉美子、清野陽子、佐々木多栄子、遠藤泰志: "ブタノール法による魚油および食品抽出油脂のカルボニル価の測定", 日食科工誌, **54**, 54-58 (2007).
- 6) Usuki, R., Shibata, Y., Tagiri-Endo, M. and Endo, Y.: "Estimation of total carbonyl compounds in roasted and dried foods by the tentative method using 1-butanol as a solvent.", *J. Oleo Sci.*, **58**, 23-25 (2009).
- 7) 特許第4059310号: 油脂のカルボニル価の測定方法及び該方法において使用する溶剤並びに測定キット。

## カルボニル価測定用



### 1-ブタノール

#### 規 格

試験項目	規格値	
外観	無色澄明の液体	
密度 (20°C)	0.808 ~ 0.812 g/ml	
屈折率 $n_D^{20}$	1.398 ~ 1.400	
吸光度	230nm	0.20 以下
	240nm	0.07 以下
	254nm	0.03 以下
	270 ~ 400nm	0.01 以下

試験項目	規格値
水分	0.1% 以下
蛍光試験	試験適合
含量 (cGC)	99.7% 以上
カルボニル価測定適合性*	試験適合

\*基準油脂試験法「暫定法13-2003 カルボニル価 (ブタノール法)」に準拠したブランク試験を行っています。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
022-16591	1-Butanol	カルボニル価測定用	1 ℓ	9,800

#### 関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
049-03612	2,4-Dinitrophenylhydrazine	試薬特級	25g	4,250
040-31271	<i>trans</i> -2-Decenal Standard	カルボニル価測定用	1 g	9,500
041-31201	Diethyl Ether-Petroleum Ether (1:1)	食品分析用	1 ℓ	3,500

## 抗Argonaute抗体を用いたmicroRNA研究ツールの紹介

和光純薬工業株式会社 ゲノム研究所 西部 隆宏、請川 亮、林田 幸信、黒川 勉

### はじめに

microRNAは約22塩基からなる一群の機能性低分子RNAで、遺伝子発現を転写後レベルで制御するガイド分子として機能し、さまざまな生体機能を担っていることが報告されています<sup>1)</sup>。ヒトやマウスでは1,000種類以上のmicroRNAの存在が示唆されており、機能未知な新規microRNAの同定、疾患に関連するmicroRNAの機能解明などが世界中で盛んに進められています。また最近では、細胞内だけでなく血液などの体液中にもmicroRNAが存在することが報告され、がんなど疾患の臨床マーカーの候補分子としても注目を集めています<sup>2)</sup>。

microRNAは細胞中で複数のステップを通して成熟化してRNA-induced silencing complex (RISC) と呼ばれるタンパク質複合体に取込まれ、その主要コンポーネントであるArgonaute (Ago) サブファミリータンパク質と結合した後に標的mRNAと結合してmRNA鎖を分解する、あるいは翻訳を抑制すると考えられています<sup>3-5)</sup> (図1)。このAgoサブファミリーはヒトで4種類 (hAgo1-hAgo4) 存在し、それぞれがユビキタスに発現しています<sup>6)</sup>。また一群のAgoサブファミリー

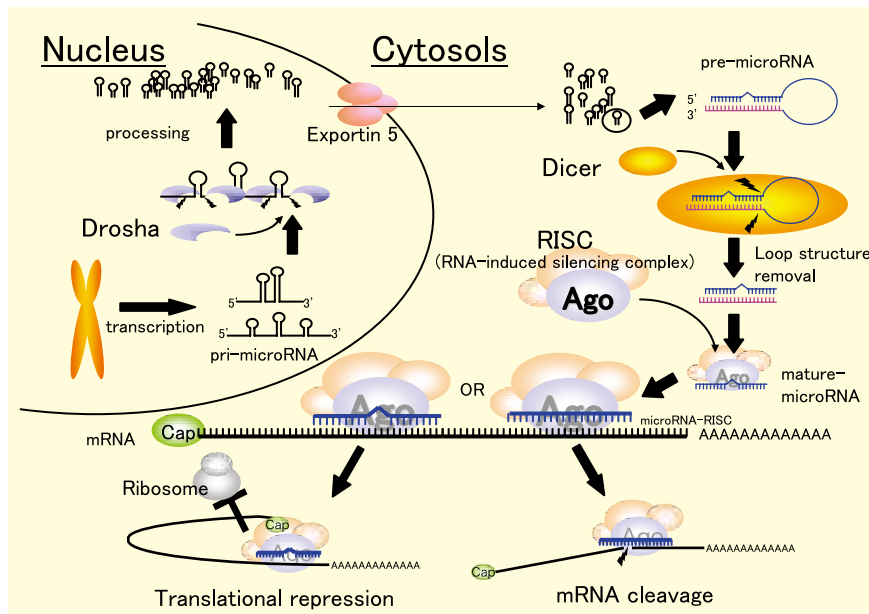


図1. microRNAの生合成と作用機構

タンパク質の中で発現量が最も多いのはAgo2で、唯一標的RNAを切断するSlicer活性を有していることから、microRNAパスウェイにおいて中心的な役割を担っていると考えられています<sup>7-13)</sup>。このAgoタンパク質に対する抗体により、RISCが免疫沈降され、そこからmicroRNAが回収できること、さらにはmicroRNAの標的になっているmRNAも共沈されることが分かり、Ago免疫沈降法はmicroRNAの多彩な機能の解明に必須の方法論と

なりつつあります<sup>14-20)</sup>。

このような状況のもと当社では抗Ago抗体を用いたmicroRNA研究ツールを中心にmicroRNAの機能解析に向けたいくつかの解析ツールを提供しています (図2)。これらを組合せて用いることにより細胞、組織などに存在するRISCに含まれているmicroRNAとmRNAを総合的に解析することができ、microRNAの解析のみならず標的mRNA解析にも応用することができます。以下にそれぞれのツールとその使用法、解析例の概略を提示します。

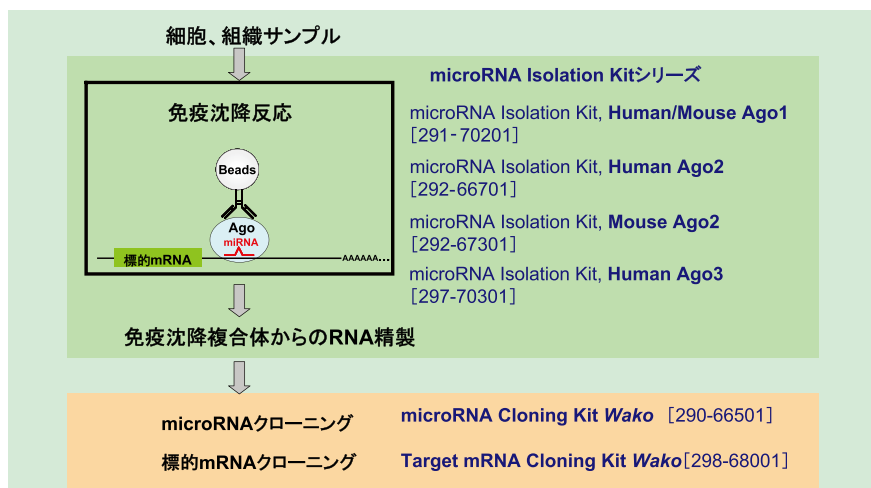


図2. Ago免疫沈降法をベースにしたmicroRNA解析ツール

### microRNA Isolation Kitシリーズ

当社では免疫沈降法に利用可能な抗Ago抗体を作製し、免疫沈降法によるmicroRNA精製が簡便に行えるmicroRNA Isolation Kitシリーズを販売しております。現在、ヒト/マウスAgo1、ヒトAgo2、マウスAgo2及びヒトAgo3に対応するキットを揃えており、ヒトAgo4に対応するキットは開発中です。これらのキットを用いることによ



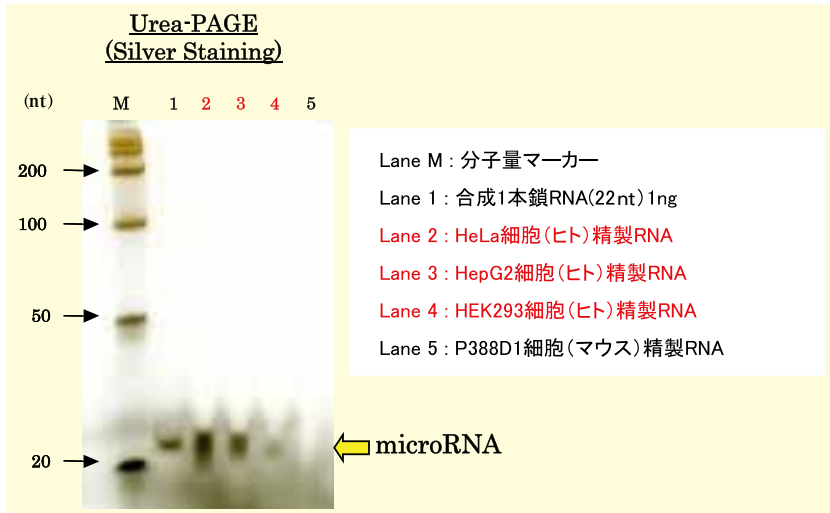


図3. ヒト培養細胞株からの microRNA 精製

microRNA Isolation Kit, Human Ago2 を用いて、ヒト培養細胞株 3 種類(HeLa、HepG2、HEK293)、及びマウス培養細胞株(P388D1) から精製した RNA 画分を Urea-PAGE の後、銀染色によって検出した。その結果、ヒト培養細胞特異的に microRNA が精製できた。使用細胞数は  $5 \times 10^6$  細胞。

り細胞、組織サンプルから各内在性 Ago タンパク質に結合した microRNA を簡便に精製取得することができます(図3)。Agoサブファミリータンパク質はユビキタスに発現していますが、その発現量には大きな差異があり、通常 Ago2 が最も多く発現していますが、各タンパク質の発現量は細胞種により異なります。本キットシリーズを駆使することで現在まだ明確でない各 Ago タンパク質と microRNA の対応の特異性についても検討することが可能となります。

また、本キットシリーズを用いることで各 Ago タンパク質と複合体を形成している mRNA を microRNA と共沈して取得することができます。microRNA と mRNA の結合領域(seed配列)は6塩基と短く、対応する配列をもつ mRNA が数多く存在することからコンピューター解析だけでは標的 mRNA の同定が困難でした。しかし、本キットシリーズにより得られる免疫沈降物中の microRNA と mRNA の相互の変動を調べ、コンピューター解析と組合せることで、microRNA の標的となっている mRNA を効率よく同定す

ることが可能になると考えられます。

### microRNA クローニング

取得した microRNA は通常マイク

ロアレイ、定量PCR、クローニングなどの方法により解析を行います。新規の分子が同定できるという点でクローニング法は利点を有しています。そこで当社では microRNA を効率良くクローニングすることができる microRNA Cloning Kit *Wako* を販売しています。

microRNA Isolation Kit シリーズで得られた RNA 画分を本キットにより解析することで、rRNA や tRNA などの分解産物や人工的な配列のコンタミが少なく高効率な microRNA クローニングが可能になります(図4)。これによりより正確なプロファイリングを行うことができ、新規な microRNA の探索にも有用です。

### 標的 mRNA クローニング

Ago 免疫沈降 RNA 中に含まれる mRNA はマイクロアレイや定量PCRなどによって解析することが可能ですが、より詳細な解析をするために当社では Ago2 免疫沈降物中に存在する微

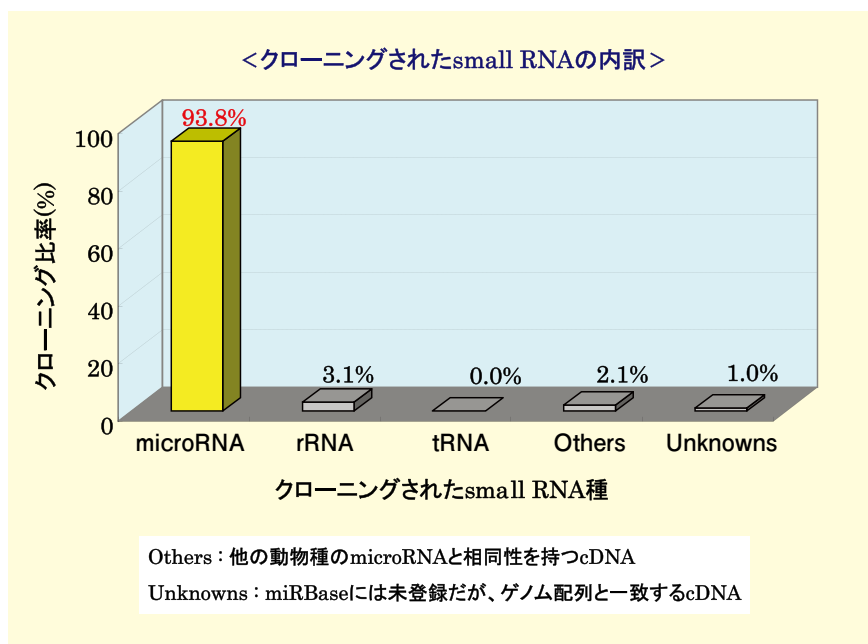


図4. microRNA Cloning Kit *Wako* による Ago2 免疫沈降 small RNA のクローニング

HeLa 細胞から microRNA Isolation Kit, Human Ago2 により精製した small RNA 画分を microRNA Cloning Kit *Wako* を用いて cDNA クローニングした。得られたクローンのうちランダムに選抜した 95 クロウンをデータベース (Sanger miRBase) に照合し、その構成を調査した。その結果、95 クロウン中 89 クロウン(全体の 93.7%) と microRNA が高効率にクローニングされた。

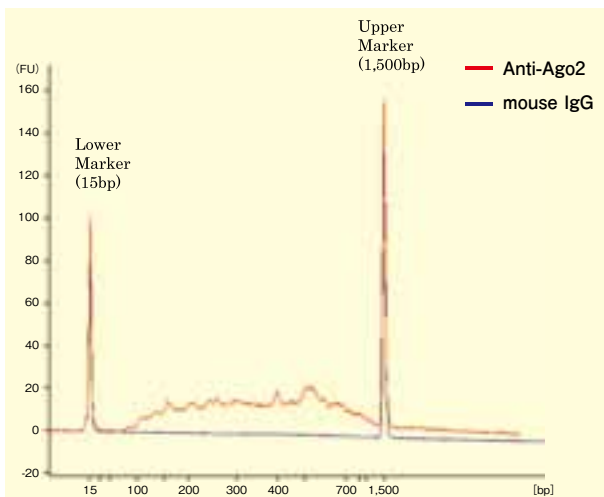


図5. Target mRNA Cloning Kit WakoによるAgo2免疫沈降mRNAのクローニング

HeLa細胞から抗ヒトAgo2、モノクローナル抗体(免疫動物: マウス)及びマウスIgGを用いて免疫沈降精製したRNA画分をTarget mRNA Cloning Kit Wakoを用いてcDNA合成し、PCR増幅したフラグメントをキャピラリー電気泳動により検出した。その結果、抗Ago2抗体を用いた免疫沈降画分から特異的にmRNAに由来するcDNAフラグメントが検出された。

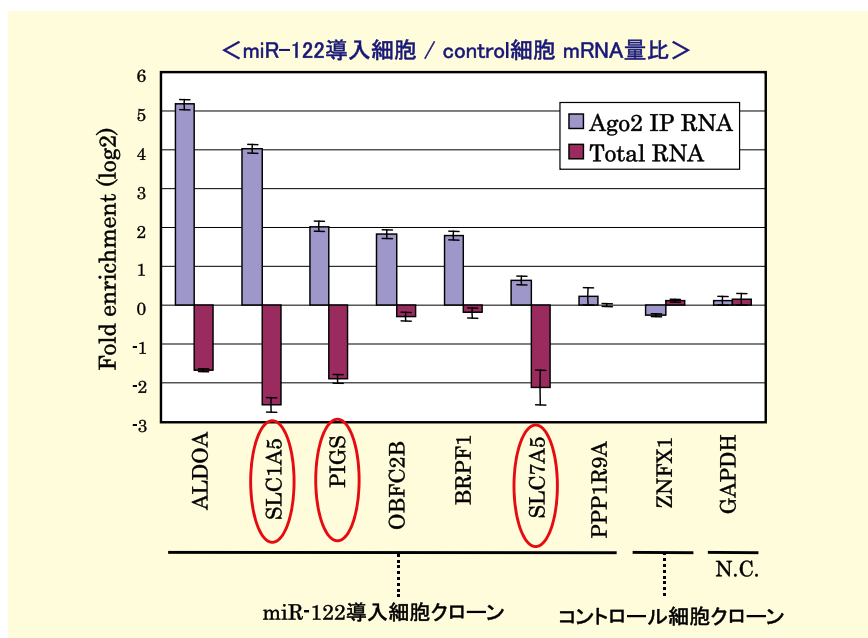


図6. miR-122の標的mRNA探索

肝臓特異的なmicroRNAであるmiR-122の標的mRNA探索として、miR-122をほとんど発現していないヒト肝がん細胞株HepG2にmiR-122を導入し、Ago2免疫沈降物中のmRNAをTarget mRNA Cloning Kit Wakoを用いてcDNAクローニングし、そのプロファイルをルシフェラーゼsiRNA導入コントロール細胞と比較した。その結果、miR-122導入細胞から得られたクローンにTargetScanによりmiR-122のターゲットとして確率の高いことが予測されたmRNAが多く含まれていた。そこでそれらのmRNAについてmiR-122導入細胞とコントロール細胞における量比を定量PCRにより測定し、Ago2免疫沈降画分での濃縮度合いを検出した。図はその結果で、miR-122導入細胞でAgo2免疫沈降RNA (Ago2 IP RNA) 中に特異的に濃縮されるクローンが高い割合で存在し、逆にTotal RNA量はRISCによる分解を受けることでコントロール細胞よりも減少するクローンが存在した。これらの中にはmiR-122の標的としていまだ報告されていない新規の標的候補 (SLC1A5、PIGS、SLC7A5) が含まれていた。

量なmRNAをクローニングできるTarget mRNA Cloning Kit Wakoを販売しています。本キットでは相補鎖のcDNA合成にランダムプライマーを用いることによりcDNAの鎖長を均一化させ、鎖長差により引き起こされるPCR時の増幅効率のバイアスを抑制してmRNAのポピュレーションをできるだけ反映できるような工夫がされています。この方法で合成増幅したAgo免疫沈降物中のmRNA由来のcDNAはキャピラリー電気泳動によってその存在を確認することができます(図5)。また本キットにより増幅されたcDNAの中にはマイクロアレイでは同定できないようなRISC内のmRNA以外のRNA分子も含まれており、我々はある程度の量のAlu関連配列がRISC内に存在することを見出しています<sup>21)</sup>。

当社では本キットを用いて特定のmicroRNAの標的mRNA探索を試みました<sup>21)</sup>。肝臓特異的なmicroRNAであるmiR-122は細胞のがん化に伴いその発現が低下することが知られており、肝細胞のがん化と関連することが報告されています<sup>22)</sup>。我々はmiR-122をほとんど発現していないヒト肝がん細胞株HepG2にmiR-122を導入し、Ago2免疫沈降物中のmRNAをcDNAクローニングしてそのプロファイルをルシフェラーゼsiRNA導入コントロール細胞と比較しました。その結果、得られたクローンをTargetScanにより解析することでmiR-122導入細胞にmiR-122のターゲットとして確率の高いクローンが多く存在していることが示されました。これらクローンについて定量PCR解析を行うと、多くのものはmiR-122の導入によってmRNAがAgo2免疫沈降物中に濃縮され、総量としてはRISCを介した分解により減少していることが確認されました(図6)。その中には標的としていまだ報告のないクローンも存在し、これらは新規のmiR-122標的mRNA候補で

あると考えられ、本キットが標的 mRNA 探索に有効であることが示されました。

## おわりに

以上のように microRNA Isolation Kit シリーズ、microRNA Cloning Kit Wako、Target mRNA Cloning Kit Wako を用いることにより RISC に含まれる microRNA と mRNA を総合的に解析することが可能になります。これらのツールは、新規 microRNA の同定、microRNA の発現プロファイル、標的 mRNA の探索など microRNA の機能解析に活用できるばかりでなく、医薬への活用が期待されている siRNA のオフターゲットの探索などにも活用できるものと期待されます。また、microRNA Isolation Kit シリーズに用いている抗 Ago ファミリー抗体は単品での販売も行っており、免疫沈降だけでなくウェスタンブロッティ

ングや細胞染色などの用途にも用いることができます。ぜひ皆様のご研究にお役立て頂ければと考えます。

## 〔参考文献〕

- 1) Bartel, D. P. : *Cell*, **116**, 281 (2004).
- 2) Cortez, M. A. and Calin, G. A. : *Expert Opin. Biol. Ther.*, **9**, 703 (2009).
- 3) Hammond, S. M., Bernstein, E., Beach, D. and Hannon, G. J. : *Nature*, **404**, 293 (2000).
- 4) Hammond, S. M., Boettcher, S., Caudy, A. A., Kobayashi, R. and Hannon, G. J. : *Science*, **293**, 1146 (2001).
- 5) Gregory, R. L., Chendrimada, T. P., Cooch, N. and Shiekhattar, R. : *Cell*, **123**, 631 (2005).
- 6) Sasaki, T., Shiohama, A., Minoshima, S. and Shimizu, N. : *Genomics*, **82**, 323 (2003).
- 7) Pillai, R. S., Artus, C. G. and Filipowicz, W. : *RNA*, **10**, 1518 (2004).
- 8) Meister, G., Landthaler, M., Patkaniowska, A., Dorsett, Y., Teng, G. and Tuschl, T. : *Mol. Cell*, **15**, 185 (2004).
- 9) Liu, J., Carmell, M. A., Rivas, F. V., Marsden, C. G., Thomson, J. M., Song, J. J., Hammond, S. M., Joshua-Tor, L. and Hannon, G. J. : *Science*, **305**, 1437 (2004).
- 10) Song, J. J., Smith, S. K., Hannon, G. J. and Joshua-Tor, L. : *Science*, **305**, 1434 (2004).
- 11) Meister, G. and Tuschl, T. : *Nature*, **431**, 343 (2004).
- 12) Hutvagner, G. and Zamore, P. D. : *Science*, **297**, 2056 (2002).
- 13) Yekta, S., Shih, I. H. and Bartel, D. P. : *Science*, **304**, 594 (2004).
- 14) Beitzinger, M., Peters, L., Zhu, J. Y., Kremmer, E. and Meister, G. : *RNA Biol.*, **4**, 76 (2007).
- 15) Karginov, F. V., Conaco, C., Xuan, Z., Schmidt, B. H., Parker, J. S., Mandel, G. and Hannon, G. J. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 19291 (2007).
- 16) Easow, G., Teleman, A. A. and Cohen, S. M. : *RNA*, **13**, 1198 (2007).
- 17) Hendrickson, D. G., Hogan, D. J., Herschlag, D., Ferrell, J. E. and Brown, P. O. : *PLoS ONE*, **3**, e2126 (2008).
- 18) Landthaler, M., Gaidatzis, D., Rothballer, A., Chen, P. Y., Soll, S. J., Dinic, L., Ojo, T., Hafner, M., Zavolan, M. and Tuschl, T. : *RNA*, **14**, 2580 (2008).
- 19) Chi, S. W., Zang, J. B., Mele, A. and Darnell, R. B. : *Nature*, **460**, 479 (2009).
- 20) Wang, W. X., Wilfred, B. R., Hu, Y., Stromberg, A. J. and Nelson, P. T. : *RNA*, **16**, 394 (2009).
- 21) Hayashida, Y., Nishibu, T., Inoue, K. and Kurokawa, T. : *BMC Res. Notes*, **2**, 169 (2009).
- 22) Gramantieri, L., Ferracin, M., Fornari, F., Veronese, A., Sabbioni, S., Liu, C. G., Calin, G. A., Giovannini, C., Ferrazzi, E., Grazi, G. L., Croce, C. M., Bolondi, L. and Negrini, M. : *Cancer Res.*, **67**, 6092 (2007).

## Products



## microRNA研究関連製品

内在性 Ago タンパク質の検出・精製と、標的 mRNA を共沈できる microRNA Isolation Kit シリーズ他を是非お試しください。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
<b>キット類</b>				
290-66501	microRNA Cloning Kit Wako	遺伝子研究用	8 回用	63,000
298-65103	Single Strand DNA Ligase, thermostable, recombinant, Solution	遺伝子研究用	200units	43,000
292-65101			500units	87,000
298-67901	PCR Purification Kit Wako	遺伝子研究用	30 回用	15,000
298-68001	Target mRNA Cloning Kit Wako	遺伝子研究用	10 回用	60,000
291-70201	microRNA Isolation Kit, Human/Mouse Ago1	遺伝子研究用	10 回用	60,000
292-66701	microRNA Isolation Kit, Human Ago2	遺伝子研究用	10 回用	45,000
292-67301	microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2	遺伝子研究用	10 回用	45,000
297-70301	microRNA Isolation Kit, Human Ago3	遺伝子研究用	10 回用	60,000
<b>抗体</b>				
011-22033	Anti Human Ago2, Monoclonal Antibody	免疫化学用	50 $\mu$ l	30,000
015-22031			100 $\mu$ l	50,000
014-22023	Anti Mouse Ago2, Monoclonal Antibody	免疫化学用	50 $\mu$ l	30,000
018-22021			100 $\mu$ l	50,000
018-22401	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (1F2) (WB)	免疫化学用	50 $\mu$ l	30,000
015-22411	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (2A7) (IP)	免疫化学用	50 $\mu$ l	30,000

## ガジュツの類

日本薬科大学 漢方薬学科 木村 孟淳

地球上の大陸東岸に当たる地域は湿润温暖な気候に恵まれ、植物の種類も量も豊富で、薬用、食用、香辛料、観賞用とその応用も極めて多種多様である。その中で、アジア大陸の東岸からインド亜大陸、アフリカ北部にかけて、熱帯降雨林や亜熱帯モンスーン地帯を中心として、多種類のショウガ科植物が分布しており、その大部分が薬用その他の有用植物として利用されている。その中でウコン、ガジュツなどが含まれるクルクマ属の植物は植物学的に大変扱いにくい厄介なグループである。

クルクマ属の植物は長い進化の歴史の間に種子を作らず、根茎の株分かれによってのみ増殖するという性質を獲得してしまった。ということはメンデルの法則が全く通用しない遺伝を続けているということになる。極端な話、一個体しかない親から永遠に増え続けているクローン植物であり、他の植物でいうタクソン（分類群）という考え方は通用しない、永久に一個体である。インドが原産地と考えられているガジュツの分布の北限は日本の屋久島である。屋久島のガジュツは平安時代から江戸時代にかけて薩摩の重要な輸

出産品であり、台湾や中国にも厳密に同じと言えるものがなく、屋久島固有のものと考えての方が妥当である。

屋久島から遠く離れた土地で、たまたま川に流れた根茎が、海をさまよって屋久島に漂着し、そこに根をおろして何万年あるいは何百万年と生き続ける間に、屋久島の気候風土に合った性質に変わってしまったと考えてはいけな

いだろうか。1970年頃、筆者は海外技術事業団（現在のJICA）派遣でタイ国の薬用植物研究所に勤務した。そのころのタイの植物学の本にはクルクマ属植物はたった6種類しか掲載されていなかった。バンコクの旧王宮前広場で毎週末に市場が開かれているが、ここでショウガの類の根茎を専門にして売っているおじさんがいた。この人は常に150種ほどの根茎を並べて売っていて、その半数以上がひと目でクルクマの類と分かるものを置いていた。この人は根茎をポキンと折って、切り口の色と味で区別できるように、客にも切り口を見せながら説明をしていた。もちろんラテン名などは分からない。

タイのガジュツには切り口が青紫色のものと青緑色のものの2種類があ

る。青紫色のものが*Curcuma zedoaria*、青緑色のものが*Curcuma aeruginosa*と単純に理解していたが、ことはそれほど簡単ではないらしいのである。植物学の原報には*C. zedoaria*の切り口は白、*C. aeruginosa*の切り口は緑青のような緑色と記載されている。中国ではガジュツの原植物が6種類もの数に分けられている。

ガジュツによく似たハルウコン*C. aromatica*は切り口が薄い黄色、ウコン*C. longa*はあざやかなオレンジ色になる。日本では、ハルウコンとガジュツは葉が成長する前の6月ごろ花茎が先に出て開花する。これに反してウコンは8月から9月ごろ、2方向に出た葉の間、つまり根茎の茎頂から花茎をのぼして花の穂をつける。

ガジュツの特徴としては、葉の中央付近の葉脈に沿って赤紫色の斑点がはいり、これはタイも中国も屋久島も変わらない。根茎から直接出て茎のように見える葉柄の下部が暗赤色になるが、屋久島のものは根茎まで草色のままである。

屋久島のガジュツは根茎の切り口は紫色で、最近ではムラサキウコンという名前まで使われている。また、一つの穂につく花の数がやや少ないという特徴があり、初島氏によって*Curcuma liukiensis*という名がつけられたことがあるが、一般化せず、疑問視されながらも*Curcuma zedoaria* Roscoeという学名を使っている。

中国産のガジュツは温郁金 *Curcuma wenyujin* という学名が現在使われている。

ガジュツの成分<sup>1)</sup>については東北大学のヒキノら、静岡県立大の福島ら、大阪大学の北川、渋谷らなどのほか、中国、インドなどから多数の研究報告があり、発見された成分はcurcuminなどのクルクミノイド類が12種、モノテルペン、セスキテルペンが合わせて100種以上にもなっている。ウコンの根茎はcurcuminが圧倒的に多く、



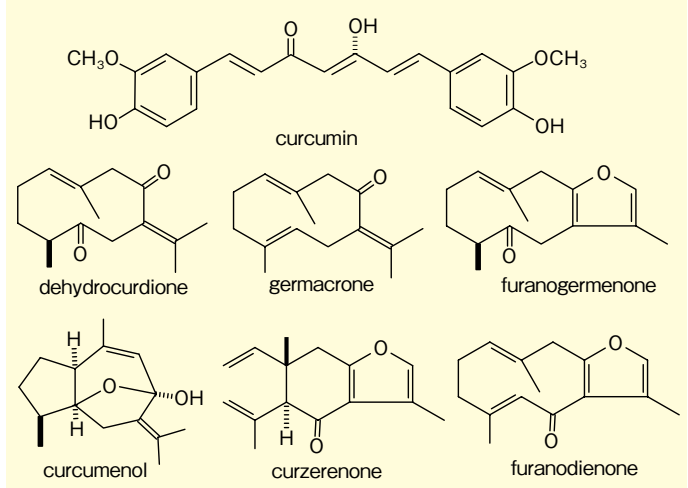
図1. タイ国産ガジュツ  
*Curcuma aeruginosa*



図2. 屋久島産ガジュツ  
*Curcuma zedoaria*



図3. 根茎の切り口  
 左：タイ国産ガジュツ  
 中：屋久島産ガジュツ  
 右：ウコン



カレーライス、たくあん漬けの黄色色素としてよく知られている。curcuminは水にも油にもよく溶け、紫外線によって黄色の蛍光を発生し、人体に有害な作用はなく、胆汁分泌を促進する薬効もあり、食品用の黄色色素として優れた性質を持っている。タイなどで仏僧が着る黄色の衣を染める聖なる染料としても尊ばれている。タイの田舎町でインドネシア料理のドライカレーを食べたところ、翌日、「ドクター・キムラは仏教徒のくせに回教徒の料理を食べた」といって研究所の女性たちに睨まれた。タイ・カレーにはウコンが入らない。

ガジュツにはcurcuminの類はごくわずかにしか含まれず、セスキテルペン類が主成分になる。渋谷ら<sup>2)</sup>によると、中国産のガジュツにはdehydrocurdione, germacrone, furanogermenoneが多く、台湾産のガジュツにはcurcumenol, curzerenone, furanodienone、屋久島産のガジュツはcurcumenolがやや少

ないが、これらの成分をすべて多量に含んでいて、しかもそれらの総量である精油含量も1.13%で、中国、台湾の二倍以上という数値を示している。屋久島産のガジュツの精油は量も多く、比重が水より重くて沈むため、局方の精油定量は生薬量を減らすなどの工夫が必要なほどである。屋久島産のガジュツの精油は鮮やかな紫色を呈しているが、その色の本体はアズレン類で、紫色のlinderazurenoneと青色のchamazurenoneであると筆者ら<sup>3)</sup>が報告している。

ガジュツを主役とするほとんど唯一の家庭薬として「恵命我神散」が胃腸良薬というふれこみで販売されていたものが、戦後一般に販売されてきたものである。漢方で使われることはほとんどない。この製剤の薬効は腹痛をはじめ、便秘、下痢のいずれにも効果があり、酒毒、肝臓病、胃がんにも効いたという報告もあり、最近ではアニサキ

スに対する駆虫効果、ヘリコバクター・ピロリの除菌効果なども明らかにされている。2、3のセスキテルペンに制がん作用が見出されているが、作用が弱く、さらに解明が待たれるところである。

動物実験では総エキスで著しい胆汁分泌促進作用が認められ、小腸内輸送能は減少、胃液分泌は抑制、胃潰瘍形成の抑制、エールリッヒ腹水がん抑制などが認められている。

成分ではfuranogermenoneに実験的肝障害改善の効果が認められる。

【参考文献】

- 1) Ravindran, P. N., Nirmal Babu, K., Sivaraman, K. and Kimura, T. *et al.*: "Turmeric, The genus *Curcuma*", CRC Press, Boca Raton, London, New York (2007).
- 2) 渋谷博孝ら：薬学雑誌, **106**, 212 (1986).
- 3) 木村孟淳ら：日本生薬学会41年会(札幌)要旨集, 187 (1994).

Products



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
020-16411	Bisdemethoxycurcumin	局方一般試験法用	10mg	34,000
038-21021	Curcumin	局方生薬試験用(成分含量測定用)	10mg	32,000
049-31001	Demethoxycurcumin	局方一般試験法用	10mg	34,000

### はじめに

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) は、核内受容体スーパーファミリーに属する、脂溶性低分子化合物をリガンドとする転写因子である。PPARはリガンド結合後、他の多くの核内受容体と同様、レチノイドX受容体 (RXR) とヘテロダイマーを形成し標的DNAの特定塩基配列 (PPRE) に結合することで標的遺伝子群の転写を制御している。PPARには $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ の3サブタイプが同定されている。初期の研究によりPPAR $\alpha$ は肝臓や腎臓等脂肪酸酸化能の高い組織に分布している脂肪酸の代謝や輸送、コレステロールや中性脂肪の代謝に関連する遺伝子の発現制御をしていることが判明した<sup>1)</sup>。PPAR $\gamma$ は白色脂肪組織や褐色脂肪組織に顕在していて、脂肪細胞の分化誘導に対し中心的役割を果たしている<sup>2)</sup>。PPAR $\delta$ は骨格筋を含め各組織に普遍的に発現していて、飢餓時のエネルギー産生に関する中心的転写因子としての役割等が報告されている<sup>3)</sup>。PPAR各サブタイプは、それぞれ、糖・脂質・コレステロールの恒常性制御因子としてその発見当初から代謝性疾患治療薬の分子標的として注目されてきた。しかし近年、PPARの機能は糖・脂質恒常性調節のみならず、がんや免疫、記憶、睡眠、創傷修復等との連関も報告されるに至りその多能性が着目されている。従来、PPAR各サブタイプ選択的リガンド創製を目指した研究が精力的に行われてきた。しかし、PPAR各サブタイプはそれぞれに特徴的な遺伝子発現制御機能を有すること、ならびにサブタイプ選択的リガンドによる副作用軽減の可能性から、近年PPARデュアルアゴニスト、さらにはPPARパンアゴニストの創製が期待されている<sup>4)</sup>。

我々はこれまでに1,3,4-三置換ベンゼンをスキャットホルドに用いたPPARアゴニスト創製を研究しており、すでにPPAR $\alpha$ 選択的アゴニスト

(KCL)<sup>5)</sup>、PPAR $\alpha/\delta$ デュアルアゴニスト (TIPP-401)<sup>6)</sup>、PPAR $\delta$ 選択的アゴニスト (TIPP-201)<sup>7)</sup> 等一連の光学活性 $\alpha$ -置換フェニルプロピオン酸誘導体を創製してきた。さらに、光学活性 $\alpha$ -置換フェニルプロピオン酸のPPARリガンドとしての機能拡張の観点から新規PPARパンアゴニスト創製を計画しTIPP-703<sup>8)</sup>の創製にも成功した。今般、和光純薬工業株式会社より、このTIPP-703の試薬として市販させていただくことになり、その開発の経緯等を紹介したい。

### リガンドスーパーファミリー概念

核内受容体はヒトにおいては48種類の存在が知られている。これらは一つの始原遺伝子から分子進化派生した蛋白質であり、スーパーファミリーを形成している。そうであるならば、そのリガンドにもスーパーファミリーが存在し得るはずであると著者は考える。すなわち核内受容体の三次元構造は高度に保存されており、リガンド結合部位の構造も基本的には相互に似ているはずである (実際極めて良く似ているのである)。著者は核内受容体のリガンド結合部位の三次元構造は、始原蛋白質のリガンド結合部位構造を共通基本構造として有し、さらに個々の核内受容体リガンドに特徴的相補構造が先の共通基本構造に付加された形で分子進化したと考えている。この“リガンドスーパーファミリー概念”<sup>9)</sup>という作業仮説のもとに著者はこれまでにPPARリガンドを中心に、肝臓X受容体 (LXR) リガンド<sup>10)</sup>、ファルネソイドX受容体 (FXR) リガンド<sup>11)</sup>、プロゲステロン受容体 (PR) リガンド<sup>12)</sup>、アンドロゲン受容体 (AR) リガンド<sup>13)</sup>の創製研究を合理的かつ効率よく展開しその概念適応の有用性を示してきた。

### フェニルプロピオン酸スキャットホルドの構造展開

著者はこれまでにPPAR $\alpha$ サブタイ

プ選択的アゴニストKCL誘導体を創製 (代表的化合物は、欧州にて臨床第IIA相試験が終了) し、さらにその適切な構造展開によりPPAR $\alpha/\delta$ デュアルアゴニスト (TIPP-401)、PPAR $\delta$ サブタイプ選択的アゴニスト (TIPP-201) 等一連の光学活性 $\alpha$ -置換フェニルプロピオン酸誘導体を創製し、置換フェニルプロピオン酸構造のPPARリガンド創製におけるスキャットホルドとしての有用性を示してきた。先に記載したように、PPAR各サブタイプはそれぞれ脂質、リポ蛋白質、糖質の恒常性維持に重要な機能を有する遺伝子発現を制御していることから全てのPPARサブタイプを活性化できるPPARパンアゴニストには、例えば糖尿病治療薬として臨床使用されているピオグリタゾンやロシグリタゾン等選択的PPAR $\gamma$ アゴニストのインスリン抵抗性改善作用という有効性を保持しつつ、一方で、浮腫や体重増加といった副作用が軽減したより安全性の高い糖尿病治療薬としてのポテンシャルが期待された。これまでにPPARパンアゴニスト創製の報告は極わずかであった<sup>14,17)</sup>ためその創製を計画した。

リガンドスーパーファミリー概念を踏まえてこれまでに合成した置換フェニルプロピオン酸誘導体の構造を改めて眺めてみると、本系統の化合物は基本的にPPAR $\alpha$ およびPPAR $\delta$ に対し高活性を示す構造であり、PPAR $\gamma$ リガンド創製のスキャットホルドとしては不向きな傾向が読み取れた (図1)。事実、これまでに合成した化合物で、PPAR $\gamma$ 転写活性化作用に関してナノモラーオーダーのEC<sub>50</sub>値を示す化合物は存在しなかったのである。しかし、活性は弱いながらも、疎水性末端部分置換基の立体的因子がPPAR $\gamma$ に対する転写活性化作用に相関しているような傾向が読み取れた (化合物1)。そこで疎水性末端部分に三次元的により嵩高いアダマンチル基を導入した化合物を合成した (化合物2)。この化

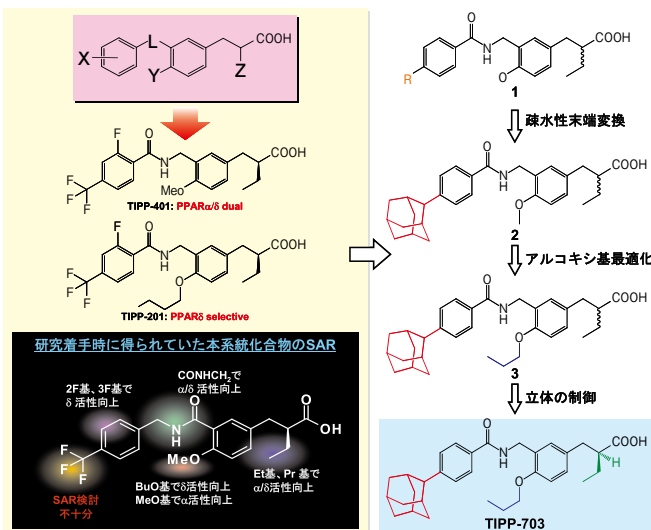


図1. フェニルプロピオン酸スキャホールドを用いた PPAR リガンドの創製展開と、これまでに得られたフェニルプロピオン酸型 PPAR リガンドの構造活性相関、ならびに PPAR パンアゴニスト TIPP-703 創製の展開概念図

化合物は期待通り、さらに PPAR $\gamma$  転写活性化作用が向上し、PPAR $\gamma$  フルアゴニストで糖尿病治療薬として臨床使用されているピオグリタゾン（アクロス®）と同等に強いサブマイクロモラーオーダーの PPAR $\gamma$  転写活性を有する PPAR $\alpha/\gamma$  デュアルアゴニスト活性を示したのである（EC<sub>50</sub> 値；PPAR $\alpha/\delta/\gamma$  = 95/1100/120nM）。

化合物 2 を次なるリード化合物とし、PPAR パンアゴニスト創製を目指す場合の次なる課題は PPAR $\delta$  活性を如何に増強するかという点である。しかし、これまでの構造活性相関に関する知見ならびに活性発現に関する相加的傾向を踏まえれば、PPAR $\delta$  活性の向上を図ることは容易と思われた。即ち、化合物 2 の中央ベンゼン環 4 位アルコキシ基の伸長により PPAR $\delta$  活性の向上が見込まれた。そこで 4 位メトキシ基を増炭した n-プロポキシ基に変換した化合物（化合物 3）を合成したところ、予想通り他のサブタイプに対する影響を与えずに PPAR $\delta$  活性のみ向上させることができた（EC<sub>50</sub> 値；PPAR $\alpha/\delta/\gamma$  = 140/220/70nM）。

カルボキシル基の  $\alpha$  位エチル基に関する立体化学は、(S) 配置の方がより

高活性であるというこれまでの知見を踏まえ (S)-エチル体を合成し、各サブタイプの転写活性化作用がさらに向上した化合物 TIPP-703 を創製するに至ったのである（EC<sub>50</sub> 値；PPAR $\alpha/\delta/\gamma$  = 61/120/43nM）（図 1）。

前駆脂肪細胞は PPAR $\gamma$  の作用により分化し脂肪細胞となる。生成した脂肪細胞はインスリン感受性で、遊離脂肪酸をトリグリセライドの形で細胞内に取り込むようになることが知られていて、PPAR $\gamma$  活性の指標としてよく用いられる。TIPP-703 はマウス線維芽細胞 3T3-L1 を用量依存的に脂肪細胞へと分化させることがトリグリセライド含量の直接測定より確認された。またその活性の強さは既存の PPAR $\gamma$  フルアゴニストで糖尿病治療薬として臨床使用されているロシグリタゾン（アバンディア®）と同等であることが確認できた（図 2）。

また、ヒト肝癌細胞株 HuH-7 を用いた遺伝子発現実験においては、TIPP-703 は PPAR 各サブタイプで発現制御されている代表的遺伝子群の発現を亢進させることも確認できた。すなわち、TIPP-703 は PPAR $\gamma$  アゴニストで強い発現亢進が認められたアンジ

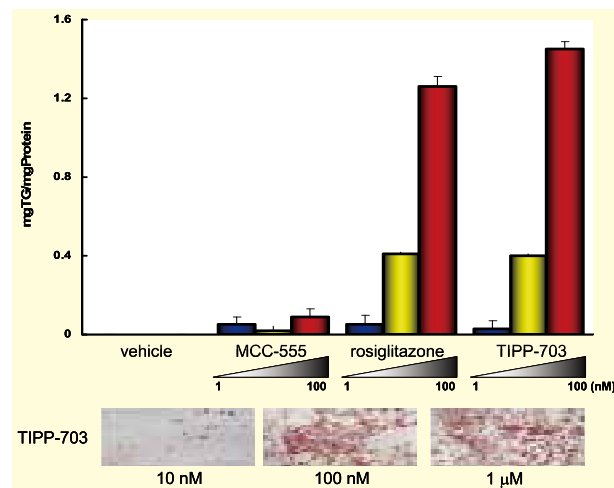


図2. 代表的 PPAR $\gamma$  アゴニストによる 3T3-L1 脂肪細胞分化誘導活性効力の比較結果 (MCC-555；PPAR $\gamma$  パーシャルアゴニスト、rosiglitazone；PPAR $\gamma$  フルアゴニスト) ならびに 3T3-L1 細胞を TIPP-703 で処理した場合の oil-red-o 染色像

オポエチン様ペプチド 4 (ANGPTL4)、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルコエンザイム A 合成酵素 2 (HMGCS2)、PPAR $\gamma$  アゴニストならびに PPAR $\alpha$  アゴニストで強い発現亢進が認められた細胞内脂肪滴構成蛋白質 (ADRP)、PPAR $\alpha$  アゴニストならびに PPAR $\delta$  アゴニストで強い発現亢進が認められたカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 (CPT1) のいずれの遺伝子発現も亢進させた。これらの実験結果は、細胞レベルにおいても TIPP-703 が PPAR パンアゴニストとして活性を示すことを強く示唆する（図 3）。

### 何故アダマンチル基で PPAR $\gamma$ 活性が向上したのか

TIPP-703 は疎水性末端部に三次元的に高いアダマンチル基を導入することで、PPAR $\gamma$  アゴニスト活性が、これまで合成してきたフェニルプロピオン酸誘導体に比べ格段に向上した。しかしそれは何故なのか？ この理由を解析するために、TIPP-703 と PPAR $\gamma$  リガンド結合領域 (LBD) との複合体 X 線結晶構造解析を行った。約 1 年程の時間を要したが、幸いにも約 2.4Å の解像度での複合体結晶構造解析に成功し

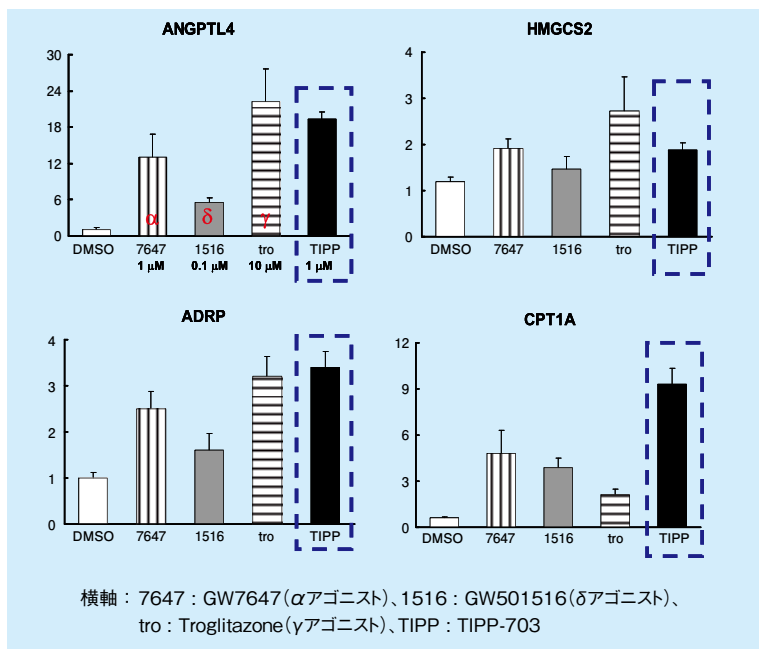


図3. ヒト肝癌細胞株 HuH-7 を用いた遺伝子発現実験

TIPP-703はPPAR $\gamma$ アゴニストで強い発現亢進が認められたANGPTL4、HMGCS2、PPAR $\gamma$ アゴニストとPPAR $\alpha$ アゴニストで強い発現亢進が認められたADRP、PPAR $\alpha$ アゴニストとPPAR $\delta$ アゴニストで強い発現亢進が認められたCPT1Aのいずれの遺伝子発現も亢進させた。

た<sup>18)</sup>。その結果を図4に示した。アダマンチル基はPPAR $\gamma$  LBD中H2'ヘリックス、H3ヘリックス、 $\beta$ 3ターンで構成される大きな疎水性空間中に収納され、そこで疎水性相互作用を形成していることが見て取れた。PPAR $\gamma$  LBDの疎水性末端への入り口に位置するアミノ酸はグリシンとイソロイシンであり側鎖の小さなアミノ酸で構成されていた。これに対し、対応するPPAR $\delta$ とPPAR $\alpha$ の疎水性末端への入り口に位置するアミノ酸はそれぞれアルギニンとトリプトファン、システインとロイシンであり、はるかに嵩高い側鎖を有するアミノ酸で構成されていた。PPAR $\gamma$  LBDの疎水性末端への広い間口と良好な疎水性相互作用をすることが重要であり、三次元的に嵩高いアダマンチル

基でそれが効果的に実現できたものと推測できる。

### おわりに

今回、本稿で紹介させていただいたTIPP-703を和光純薬株式会社より市販していただける運びとなった。このPPARパンアゴニストや著者がこれまでに創製してきた選択的リガンドを用いることによって、複雑多岐に渡り始めたPPAR機能の全容解明が進むことを期待している。TIPP-703の開発は引用文献にある多くの先生方との共同研究の賜物だが、特に現特許庁(もと東京大学大学院薬学系研究科博士過程)・春日淳一博士に謝意を表したい。

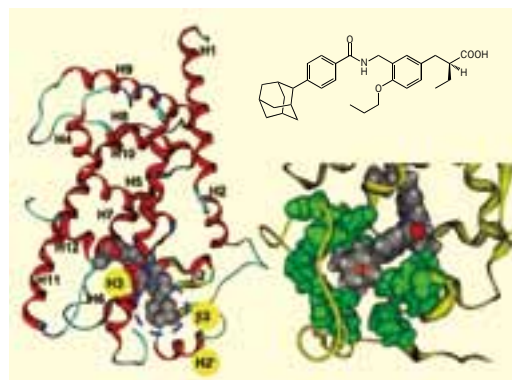


図4. TIPP-703とPPAR $\gamma$ リガンド結合領域との複合体X線結晶構造

左 図：複合体の全体構造  
右上構造：TIPP-703の化学構造  
右下 図：TIPP-703のアダマンチル基近傍で相互作用するアミノ酸の拡大図

### 【参考文献】

- 1) Aoyama, T. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **273**, 5678-5684 (1998).
- 2) Staels, B. and Auwerx, J. : *Curr. Pharmaceut. Des.*, **3**, 1-14 (1997).
- 3) Lim, H. *et al.* : *Genes Dev.*, **13**, 1561-1574 (1999).
- 4) Fruchart, J. C. *et al.* : *Curr. Atheroscler. Rep.*, **3**, 83-92 (2001).
- 5) Nomura, M. *et al.* : *J. Med. Chem.*, **46**, 3581-3599 (2003).
- 6) Kasuga, J. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 8405-8414 (2006).
- 7) Kasuga, J. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 5177-5190 (2007).
- 8) Kasuga, J. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 1110-1115 (2008).
- 9) Hashimoto, Y. and Miyachi, H. : *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 5080-5093 (2005).
- 10) Aoyama, A. *et al.* : *HETEROCYCLES*, **76**, 137-142 (2008).
- 11) Kainuma, M. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 2587-2600 (2007).
- 12) Nakagawa, A. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 7046-7054 (2008).
- 13) Wakabayashi, KI. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 6799-6812 (2008).
- 14) Sznajdman, M. L. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 1517-1521 (2003).
- 15) Mogensen, J. P. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 257-260 (2003).
- 16) Mahindroo, N. *et al.* : *J. Med. Chem.*, **48**, 8194-8208 (2005).
- 17) Rudolph, J. *et al.* : *J. Med. Chem.*, **50**, 984-1000 (2007).
- 18) Oyama, T. *et al.* : *Acta Crystallogr. D, Biol. Crystallogr.*, **65**, 786-795 (2009).

## PPAR $\alpha$ / $\delta$ / $\gamma$ アゴニスト

[EC<sub>50</sub>] PPAR $\alpha$  : 61nmol/ $\ell$ , PPAR $\delta$  : 120nmol/ $\ell$ , PPAR $\gamma$  : 43nmol/ $\ell$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
205-17881	TIPP-703	細胞生物学用	10mg	20,000





## 水分含量をさらに抑えた 有機合成用脱水溶媒



### 超脱水溶媒シリーズ キャニスター缶入り

有機合成用 超脱水溶媒は水分含量を **10ppm以下**まで抑えたハイグレードの脱水溶媒です。水分を嫌う各種有機合成反応の溶媒としてご利用下さい。

なお、超脱水溶媒は使用後に廃棄物が出ない、キャニスター缶リンク容器に充てんして販売します。ご使用の際は別途接続配管が必要になりますので、当社もしくは当社代理店までお問合せ下さい。ご使用後はキャニスター缶をすみやかに当社代理店までご返却下さい。

### 規格例

#### テトラヒドロフラン (超脱水) (安定剤不含)

試験項目	規格値
外観	無色透明の液体
密度 (20°C)	0.884 ~ 0.889 g/ml
屈折率 $n_D^{20}$	1.406 ~ 1.409
水分	0.001% 以下
含量 (キャピラリーカラムGC)	99.5% 以上

コード No.	品名 (安定剤)	水分含量	容量	総輸入税(円)
NEW 016-22907	Acetonitrile, Super Dehydrated	10ppm以下	18ℓ	照会
NEW 040-31237	Dichloromethane, Super Dehydrated (2-Methyl-2-butene 0.0005-0.005%)	10ppm以下	18ℓ	照会
NEW 084-09107	Hexane, Super Dehydrated	10ppm以下	18ℓ	照会
NEW 164-24391	Pentane, Super Dehydrated	10ppm以下	9ℓ	照会
NEW 203-17907	Tetrahydrofuran, Super Dehydrated, with Stabilizer (BHT 0.03%)	10ppm以下	18ℓ	照会
205-17761	Tetrahydrofuran, Super Dehydrated, Stabilizer Free	10ppm以下	9ℓ	照会
203-17767			18ℓ	照会
NEW 200-17917	Toluene, Super Dehydrated	10ppm以下	18ℓ	照会

### 関連商品

ご好評頂いております有機合成用脱水溶媒の紹介です。

100ml、500ml 包装品は開栓することなくシリンジで溶媒を抜き取れる特殊キャップを使用しています。9ℓ、18ℓ 包装品はキャニスター缶リンク容器入りとなっております。超脱水溶媒とあわせてご利用下さい。

コード No.	品名 (安定剤)	水分含量	容量	総輸入税(円)
010-15533	Acetone, Dehydrated	50ppm以下	100ml	1,800
016-15535			500ml	3,300
014-15531			3ℓ	13,700
012-15537			18ℓ	照会
017-15543	Acetonitrile, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,400
013-15545			500ml	4,800
011-15541			3ℓ	16,000
022-12853	Benzene, Dehydrated	30ppm以下	100ml	1,800
028-12855			500ml	3,800
026-12851			3ℓ	14,000
020-13035	1-Butanol, Dehydrated	50ppm以下	500ml	3,600
028-13031			3ℓ	14,000
027-13045	2-Butanone, Dehydrated	50ppm以下	500ml	4,100
025-13041			3ℓ	14,000
027-13263	Butyl Acetate, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,200
023-13265			500ml	4,400

コード No.	品名 (安定剤)	水分含量	容量	総輸入税(円)
024-15951	t-Butyl Methyl Ether, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,300
026-15955			500ml	5,000
020-15953			3ℓ	20,000
035-16283	Chloroform, Dehydrated (Ethanol 0.3-1.0%)	30ppm以下	100ml	1,900
031-16285			500ml	4,000
039-16281			3ℓ	16,500
032-16813	Chloroform, Dehydrated, Amylene added (Amylene 150ppm)	30ppm以下	100ml	2,000
038-16815			500ml	4,200
036-16811			3ℓ	17,500
032-20701	Cyclopentyl Methyl Ether, Dehydrated, with Stabilizer (BHT 0.005%)	30ppm以下	100ml	2,500
034-20705			500ml	6,000
038-20703			3ℓ	20,000
048-25503	Dichloromethane, Dehydrated (2-Methyl-2-butene 0.0005-0.005%)	30ppm以下	100ml	2,100
044-25505			500ml	3,600
042-25501			3ℓ	13,000
045-25493	Diethyl Ether, Dehydrated (BHT0.0003%)	50ppm以下	100ml	2,600
041-25495			500ml	6,100
049-25491			9ℓ	照会
047-25497			18ℓ	照会
042-30371	Diisopropyl Ether, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,300
044-30375			500ml	4,300
048-30373			3ℓ	16,000
042-25285	N,N-Dimethylacetamide, Dehydrated	50ppm以下	500ml	5,200
040-25281			3ℓ	21,500
041-25473	N,N-Dimethylformamide, Dehydrated	50ppm以下	100ml	1,950
047-25475			500ml	4,500
045-25471			3ℓ	16,000
043-25477			18ℓ	照会
046-26023	Dimethyl Sulfoxide, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,500
042-26025			500ml	7,000
048-25483	1,4-Dioxane, Dehydrated (BHT0.0005%)	50ppm以下	100ml	1,900
044-25485			500ml	4,000
042-25481			3ℓ	15,800
055-06133	Ethanol, Dehydrated (99.5)	50ppm以下	100ml	2,150
051-06135			500ml	4,600
059-06131			3ℓ	18,000
050-06183	Ethyl Acetate, Dehydrated	50ppm以下	100ml	1,700
056-06185			500ml	3,300
054-06181			3ℓ	13,500
053-06313	Ethylene Glycol, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,500
059-06315			500ml	7,000
089-07273	Heptane, Dehydrated	30ppm以下	100ml	2,500
085-07275			500ml	5,500
089-07033	Hexane, Dehydrated	30ppm以下	100ml	1,700
085-07035			500ml	3,400
083-07031			3ℓ	12,800
136-12383	Methanol, Dehydrated	50ppm以下	100ml	1,800
132-12385			500ml	3,550
130-12381			3ℓ	12,700
138-12387			18ℓ	照会
131-12713			100ml	2,700
137-12715	500ml	5,000		
138-12723	1-Methyl-2-pyrrolidone, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,500
134-12725			500ml	5,700
161-22025	Pentane, Dehydrated	30ppm以下	500ml	5,600
166-18305	1-Propanol, Dehydrated	50ppm以下	500ml	4,200
164-18301			3ℓ	15,500
165-17993	2-Propanol, Dehydrated	50ppm以下	100ml	1,900
161-17995			500ml	3,600
169-17991			3ℓ	13,000
161-18453	Pyridine, Dehydrated	50ppm以下	100ml	2,600
167-18455			500ml	8,000
165-18451			3ℓ	22,800
207-13963	Tetrahydrofuran, Dehydrated, Stabilizer Free	50ppm以下	100ml	2,000
203-13965			500ml	4,000
201-13961			3ℓ	15,000
206-13433	Tetrahydrofuran, Dehydrated, with Stabilizer (BHT 0.03%)	50ppm以下	100ml	2,050
202-13435			500ml	4,100
200-13431			3ℓ	15,200
203-13443	Toluene, Dehydrated	30ppm以下	100ml	1,850
209-13445			500ml	3,500
207-13441			3ℓ	13,500
242-00685	Xylene, Dehydrated	30ppm以下	500ml	3,850
240-00681			3ℓ	16,200

## 選択的還元触媒 新製品

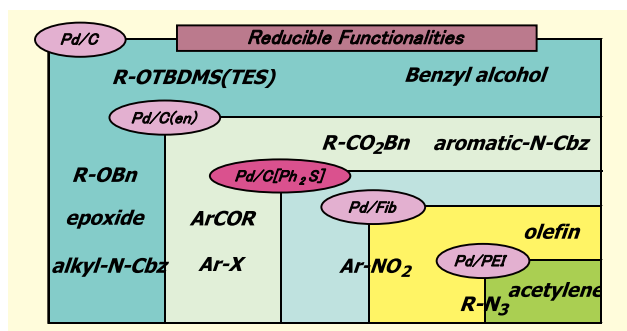
Wako

### パラジウム-活性炭素ジフェニルスルフィド複合体 (Pd8.5-11.5%) [Pd/C [Ph<sub>2</sub>S]]

本品は、パラジウム-活性炭素に触媒毒としてジフェニルスルフィドを固定化した接触還元触媒です。芳香族ケトン、芳香族ハロゲン、ベンジルエステル及び*N*-Cbz保護基共存下での、オレフィン、アセチレン、ニトロ基及びアジドの選択的還元反応に有用です。

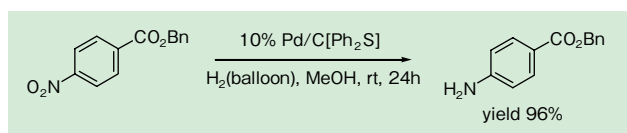
### 特長

- 官能基選択的還元触媒
- 発火性が少ない
- 反応後はろ過するだけで簡単に除去可能

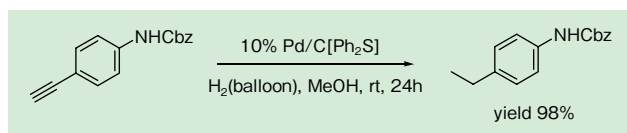


### 反応例

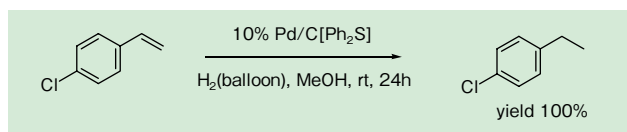
#### ベンジルエステル基存在下での選択的還元反応



#### 芳香族アミンのCbz基保護下での選択的還元反応



#### 芳香族ハロゲン化合物存在下での選択的還元反応

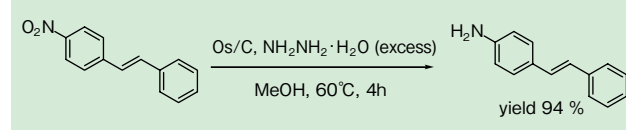


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
160-24131	Palladium-Activated Carbon Diphenyl Sulfide Complex (Pd8.5-11.5%) (wetted with ca. 50% water) [Pd/C[Ph <sub>2</sub> S]]	有機合成用	1g	5,500
166-24133			5g	15,500

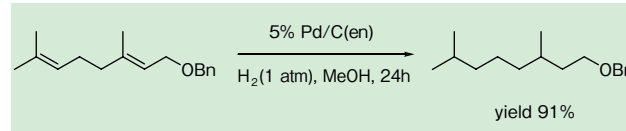
## 選択的還元触媒

当社では、本品以外にも還元触媒として、パラジウム-活性炭素にエチレンジアミン[Pd/C(en)]を固定化した触媒や、パラジウムにフィブロイン[Pd/Fib]、ポリエチレンジアミン[Pd/PEI]を担持した触媒、オスmium-活性炭素[Os/c]などの触媒を販売しています。官能基選択性に優れており、使い分けいただくことで種々の還元性官能基変換が可能です。

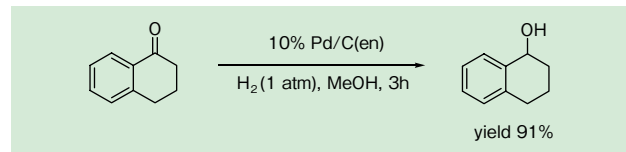
### Os/c



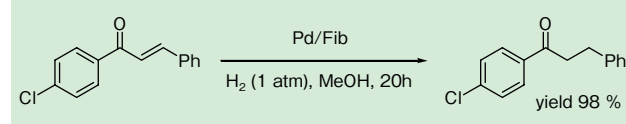
### 5% Pd/C (en)



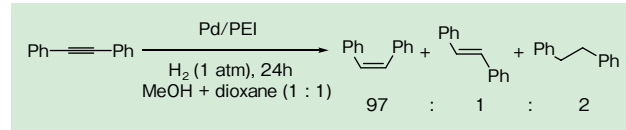
### 10% Pd/C (en)



### Pd/Fib



### Pd/PEI



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
151-02881	Osmium-Activated Carbon (Os 3.5-6.5%) [Os/C]	有機合成用	1g	5,000
157-02883			5g	16,000
163-21441	Palladium-Activated Carbon		1g	4,000
169-21443	Ethylenediamine Complex (Pd 3.5-6.5%) [5% Pd/C (en)]	有機合成用	5g	13,500
161-21442			25g	48,000
167-23301	Palladium-Activated Carbon		1g	5,000
163-23303	Ethylenediamine Complex (Pd 8.5-11.5%) [10% Pd/C(en)]	有機合成用	5g	16,000
167-22181	Palladium-Fibroin [Pd/Fib]	有機合成用	1g	4,800
163-22183			5g	14,500
161-22221	Palladium-Polyethyleneimine [Pd/PEI]	有機合成用	1g	8,600
167-22223			5g	27,500

## 選択的還元触媒のセット品

上記の5種の触媒[Os/c, 5% Pd/C(en), 10% Pd/C(en), Pd/Fib, Pd/PEI 各1g]をお求めやすいセット品にしました。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
032-21041	Chemoselective Reduction Catalysts Set	有機合成用	1セット	23,000

## 不斉水素化触媒



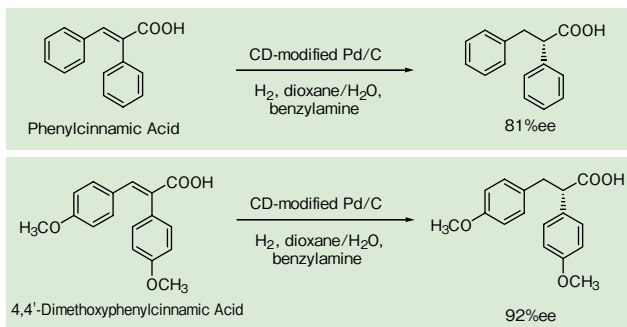
### シンコニジン修飾パラジウム - 活性炭素 [CD-modified Pd/C]

本品はパラジウム-活性炭素にシンコニジンを修飾した触媒です。β置換不飽和カルボン酸、α-ピロン誘導体の不斉水素化に有用です。シンコニジンを修飾したことで安全に使用できるほか、回収も容易に行えます。

#### 特長

- 不斉水素化に有用
- 回収が容易
- 安全に使用可能

#### 反応例



#### 【参考文献】

- 1) Sugimura, T. et al. : *J. Catal.*, **262**, 57 (2009).
- 2) 杉村高志 : *Wako Organic Square*, **31**, 2 (2010).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
031-21371	Cinchonidine-modified Palladium-Activated Carbon [CD-modified Pd/C]	有機合成用	200mg	7,000
037-21373			1g	24,000

## SIトレーサブルな標準物質



### TRM (Traceable Reference Material)

純度保証において、NMIJでSIトレーサブルな方法で測定した特性値〔純度(質量分率)〕に、当社小分け時の均質性及び、商品の保存安定性による不確かさを付加したTRMシリーズを残留農薬試験用の農薬を中心に順次追加しております。

※SI : (国際単位系) The International System of Units の略称

#### 特長

- 特性値として純度(質量分率)を記載した証明書を商品に添付
- 純度(質量分率)はNMIJトレーサブル
- 特性値の不確かさの要因として、小分け時の均質性及び保存安定性による不確かさを付加

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-22331	Anilofos Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	17,000
019-22311	Asulam Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
018-22261	Atrazine Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	8,500
028-16331	Bensulfuron-methyl Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	25,000
020-16391	Bensulide Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	11,000
020-16271	Benthicarb Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
025-16341	Bethrodine Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
022-16351	Bifenox Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
027-16281	BPMC Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	7,000
033-21071	Chlorfluazuron Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
037-20871	Chloroneb Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	15,000
031-21251	Coumaphos Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	18,000
030-21081	Cumyluron Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	25,000
049-30881	DCMU Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	7,000
049-30641	DEP Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	12,000
045-30861	Dimepiperate Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	20,000
042-30871	Dithiopyr Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	15,000
052-07841	Echloomezol Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	12,000
058-07821	EPN Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	13,000
059-07851	Esprocarb Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	16,000
054-07801	Etofenprox Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	5,000
068-05421	Flufenoxuron Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	13,000
065-05311	Flutolanil Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
070-05541	Glyphosate Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	8,000
091-05671	Iprodione Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	8,000
094-05661	Isoprothiolane Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
097-05651	Isoxathion Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
134-15961	Malathion Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	11,000
131-16191	MCP Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	12,000
136-16021	MCPP Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	15,000
133-16031	Mefenacet Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	12,000
137-15951	MEP Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	8,000
135-15991	Mepronil Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
132-16001	Metalaxyl Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	9,000
139-16011	Molinat Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	15,000
139-16131	Myclobutanil Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	16,000
164-23791	2,4-PA Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
162-24071	PCP Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
164-23811	Pendimethalin Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	13,000
160-23911	cis-Permethrin Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	10,000
165-24061	trans-Permethrin Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	25,000
161-23821	Probenazole Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	20,000
162-24191	Prochloraz Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	15,000
165-23461	Procymidone Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	13,000
162-23611	Propyzamide Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	12,000
167-23801	Pyributicarb Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	9,500
168-23831	Pyridaphenthion Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	6,000
198-15541	Silafloufen Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	14,000
198-15281	Simetryn Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	7,000
201-17501	Thiophanate Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	20,000
204-17471	Thiuram Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	5,000
225-01751	Vinclozolin Reference Material	Traceable Reference Material	100mg	14,000

## 多くの金属元素に対応



### プレセップ® ポリキレート

プレセップ®ポリキレートは、官能基としてカルボキシメチル化ポリエチレンイミンを導入したキレート樹脂を用いた固相抽出カラムです。一般的なIDA (Iminodiacetic acid) 型キレート樹脂に比べ、広いpH範囲で多くの金属元素を高度に捕捉できます。また、酸性～中性条件下では、アルカリ金属・アルカリ土類金属の影響を受けず金属オキソ酸 (Mo、V、W) を高度に捕捉することが可能です。



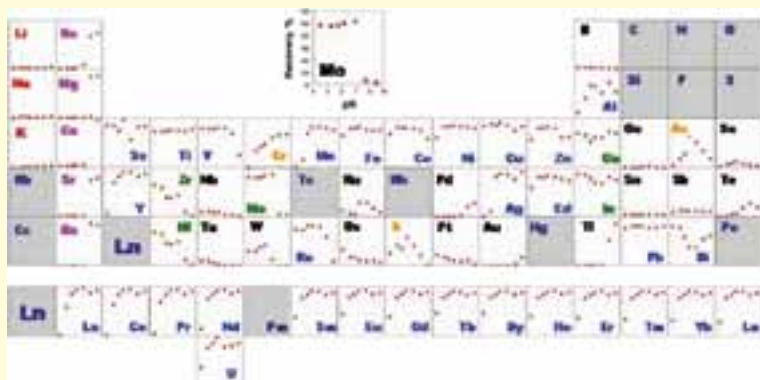
## データ

### 処理排水及び表層海水中の金属元素の測定例

Elements	Treated wastewater <sup>a</sup> (n=3)		Surface seawater <sup>b</sup> (n=3)	
	Found/ $\mu\text{g}/\ell$	Recovery <sup>c</sup> /%	Found/ $\mu\text{g}/\ell$	Recovery <sup>c</sup> /%
Cd	0.2±0.02	93±2.9	(0.03±0.004)	96±1.7
Co	< 0.033	92±3.7	(0.02±0.012)	96±1.5
Cu	1.1±0.13	104±3.5	0.77±0.017	112±3.2
Fe	33±3.3	114±13.8	1.3±0.05	94±3.2
Mn	871±75	64±9.0	Not measure	Not measure
Mo	458±9.3	98±1.7	7.4±0.07	100±4.5
Ni	11±0.2	101±4.9	0.46±0.017	100±1.8
Pb	< 0.22	94±2.7	0.09±0.052	104±2.0
V	< 0.22	92±3.1	1.3±0.05	96±2.5
Zn	11±3.1	83±2.1	2.5±0.24	102±2.2

- a. Sample volume : 200m $\ell$ , pH 5.5.  
 b. Sample volume : 300m $\ell$ , pH 4.0.  
 c. 5  $\mu\text{g}$  of each element was added to the solution.

### プレセップ® ポリキレートの金属捕捉特性



## 操作例

### カラムコンディショニング

① CH <sub>3</sub> OH	5ml
② 3mol/ℓ HNO <sub>3</sub>	10ml
③ H <sub>2</sub> O	20ml
④ 0.1 mol/ℓ CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	10ml

### 固相抽出操作

#### サンプルのpH調整

- ↓ ① 0.1 mol/ℓ CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 5ml / サンプル 100ml  
 ↓ ② HNO<sub>3</sub> または NH<sub>3</sub> 溶液を用いて pH 調整

サンプル負荷 : ~500ml

↓ 流速 : 3~10ml/min

洗浄

↓ H<sub>2</sub>O : 20ml

溶出

↓ 1~3mol/ℓ HNO<sub>3</sub> : 3~5ml

機器分析 (ICP-AES、ICP-MS、AAS など)

コード No.	品名	規格	容量	総輸入価格(円)
296-33491	Presep® PolyChelate (250mg/3ml)	試料前処理用	10本×5	75,000

## 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	総輸入価格(円)
013-08455	25% Ammonia Solution	有害金属測定用	500ml	2,400
014-20845	Ammonium Acetate	RoHS対応用	500g	1,950
136-09475	Methanol	精密分析用	500ml	1,500
140-04016	Nitric Acid (1.38)	有害金属測定用	500ml	2,200

## 超微量分析用酸類

コード No.	品名	規格	容量	総輸入価格(円)
089-07555	Hydrochloric Acid	超微量分析用	500ml	20,500
081-07755	Hydrofluoric Acid	超微量分析用	500ml	22,000
148-06935	Nitric Acid (1.42)	超微量分析用	500ml	21,000
198-11825	Sulfuric Acid	超微量分析用	500ml	20,000
217-01031	Ultrapure Water	超微量分析用	1ℓ	5,000

Cartridge : PolyChelate, 3ml of syringe type packed with 0.25g of the resin  
 Conditioning : 5ml of CH<sub>3</sub>OH, 10ml of 3mol/ℓ HNO<sub>3</sub>, 20ml of H<sub>2</sub>O and 10ml of 0.1 mol/ℓ CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>  
 Sample volume : 100ml  
 Each element : 10  $\mu\text{g}$   
 Flow rate : 3ml/min  
 Elution : 3ml of 3mol/ℓ HNO<sub>3</sub> and then 3ml of H<sub>2</sub>O  
 Measurement : PerkinElmer Optima 3000 DV ICP-AES, cross-flow nebulizer and a Scott-type spray chamber

※本データは、本品の使用例を示すもので、製品規格及び品質保証のデータではありません。

(データご提供: 富山大学工学部 加賀谷重浩先生)

## 食品成分の分析に



### 食品分析用標準品

食品分析用の標準品を新たに追加しました。

#### ■シクロアリン塩酸塩一水和物標準品

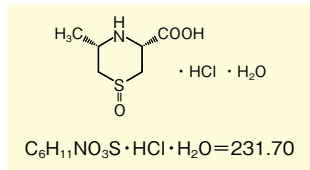
化学名：(1*S*, 3*R*, 5*S*)-5-Methyl-3-thiomorpholinecarboxylic Acid 1-Oxide Hydrochloride Monohydrate

CAS No. : 13438-71-6

含量(HPLC) : 98.0%以上

外 観 : 白色の結晶性粉末

備 考 : たまねぎに含まれる成分



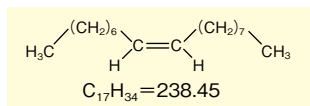
#### ■(Z)-8-ヘプタデセン標準品

CAS No. : 16369-12-3

含量(cGC) : 95.0%以上

外 観 : 無色透明の液体

備 考 : 放射線照射食品検知 炭化水素法用試薬



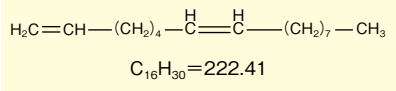
#### ■1,7-ヘキサデカジエン標準品(異性体混合物)

CAS No. : 125110-62-5

含量(cGC) : 98.0%以上(異性体混合)

外 観 : 無色透明の液体

備 考 : 放射線照射食品検知 炭化水素法用試薬



#### ■酢酸(±)-α-トコフェロール標準品

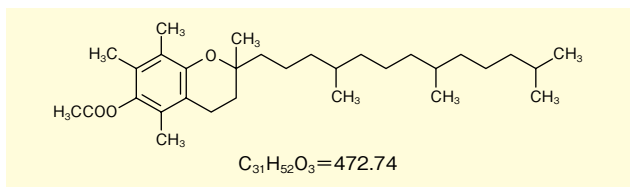
別 名 : Vitamin E Acetate

CAS No. : 7695-91-2

含量(HPLC) : 98.0%以上

外 観 : 無色～黄色、透明の液体

備 考 : ビタミンE誘導體



コードNo.	品 名	規 格	容 量	総量(円)
035-21151	Cycloalini Hydrochloride Monohydrate Standard	食品分析用	50mg	40,000
082-08841	(Z)-8-Heptadecene Standard	食品分析用	50mg	35,000
089-08851	1,7-Hexadecadiene Standard (mixture of isomers)	食品分析用	50mg	45,000
208-17751	(±)-α-Tocopherol Acetate Standard	食品分析用	100mg	10,000

## 骨吸収阻害剤：骨代謝の研究に！



### アレンドロン酸ナトリウム三水和物

### リセドロン酸ナトリウムn水和物

骨組織は、絶えず骨吸収と骨形成が行われており、リモデリングされています。骨代謝のバランスが崩れることによって引き起こる骨粗鬆症は、高齢化社会への移行に伴い患者数が増加しています。

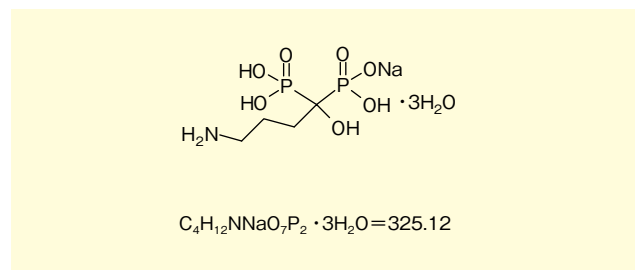
本品は、ビスフォスフォネート化合物であり、破骨細胞が付着する骨石灰化面に選択的に分布します。そして破骨細胞の作り出す酸性環境下で遊離されて破骨細胞に取込まれ、骨吸収活性を抑制します。破骨細胞のアポトーシス誘導作用、破骨細胞の骨吸収能の直接的抑制作用により骨吸収を抑制すると考えられています。

#### ■アレンドロン酸ナトリウム三水和物

含量(HPLC) : 97.0%以上

水溶状 : 試験適合

CAS No. : 121268-17-5

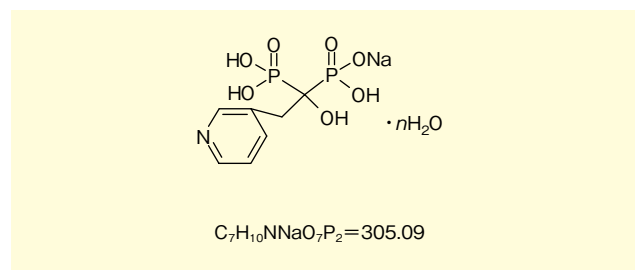


#### ■リセドロン酸ナトリウムn水和物

含量(HPLC) : 97.0%以上

水溶状 : 試験適合

CAS No. : 115436-72-1



コードNo.	品 名	規 格	容 量	総量(円)
012-22661	Alendronate Sodium Salt Trihydrate	薬理研究用	100mg	12,000
018-22663		500mg	48,000	
189-02461	Risedronate Sodium Salt n-Hydrate	薬理研究用	100mg	14,000
185-02463		500mg	48,000	

## 免疫研究に



### 抗マウス Sema4A, モノクローナル抗体

### 抗マウス Sema4D/CD100, モノクローナル抗体

セマフォリンファミリーは、発生過程における神経軸索の方向性を決定する神経ガイダンス因子として同定された分子群です。現在その機能は、神経系にとどまらず器管形成、免疫系、血管新生、がんの伸展への関与など、多岐にわたることが明らかになっています。最近では、免疫系におけるセマフォリンの重要性が広く認識されることとなり、免疫系において機能するセマフォリン分子は『免疫セマフォリン』の名称でも呼ばれています。

当社では免疫系に関わるセマフォリン4A (Sema 4A)、セマフォリン4D/CD100 (Sema 4D/CD100) に対するマウスモノクローナル抗体をラインアップしました。

### ■抗マウス Sema4A, モノクローナル抗体

Sema4Aは、免疫系では主として樹状細胞に多く発現しています。休止期のT細胞にはSema4Aの発現は認められませんが、Th1型細胞に分化するとSema4Aの発現が誘導されます。また、免疫学的解析よりTh1/Th2制御への関与が明らかとなっています。

形状：PBS溶液

濃度：0.7mg/ml (初回ロット実績値)

抗原：組換えマウスSema4A-Fc融合タンパク質

特異性：マウス及びヒトSema4A

クローンNo.：1H9

推奨実用希釈倍率：

Immunocytochemistry	1 : 20 ~ 50
Immunohistochemistry	1 : 10 ~ 20
Immunoprecipitation	1 : 500 ~ 1,000

### ■抗マウス Sema4D/CD100, モノクローナル抗体

Sema4D/CD100は、T細胞に多く発現しています。一方、休止期のB細胞や樹状細胞での発現は少ないですが、これらの細胞も活性化されるとSema4D/CD100の発現上昇が認められます。また、免疫応答及び免疫系のホメオスタシスの維持に重要であることが明らかとなっています。

形状：PBS溶液

濃度：0.9mg/ml (初回ロット実績値)

抗原：組換えマウスSema4D/CD100-Fc融合タンパク質

特異性：マウス及びヒトSema4D/CD100

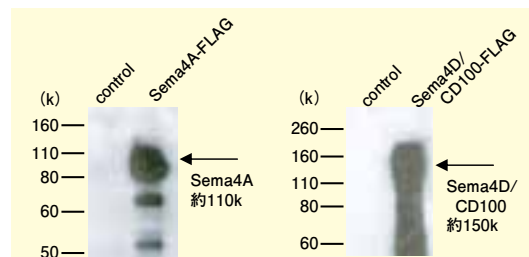
クローンNo.：5H7

推奨実用希釈倍率：

Immunocytochemistry	1 : 20 ~ 50
Immunoprecipitation	1 : 100 ~ 500

## 使用例

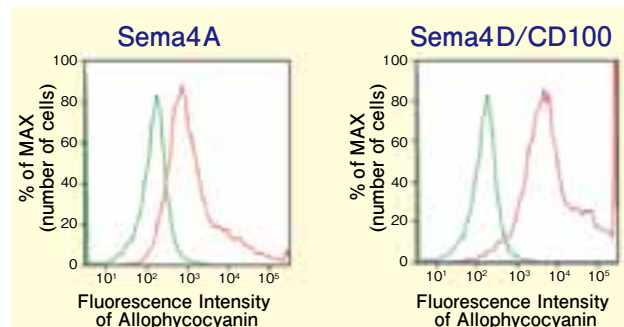
### ■免疫沈降



COS7細胞でSema4A-FLAG(DYKDDDDK)(約110k)、Sema4D/CD100-FLAG(約150k)を強制発現させ、NP-40で細胞を溶解させた。抗マウスSema4A、モノクローナル抗体及び、抗マウスSema4D/CD100、モノクローナル抗体それぞれで免疫沈降後(5µg/ml lysate)、SDS-PAGEを行い、抗DYKDDDDK抗体でウェスタンブロットを行った。2次抗体は抗マウスIgG-PODを使用し、イムノスター®LDで検出した。

(データご提供：大阪大学 微生物病研究所 感染症態分野 熊ノ郷淳先生)

### ■FACS



COS7細胞でSema4A, Sema4D/CD100を発現させ、抗マウスSema4A, モノクローナル抗体及び、抗マウスSema4D/CD100, モノクローナル抗体で染色(1:30)、抗マウスIgGで2次抗体染色(1:50)し、Allophycocyaninで検出した。

緑線：コントロール、赤線：Sema4A または Sema4D/CD100を発現させたCOS7細胞

(データご提供：大阪大学 微生物病研究所 感染症態分野 熊ノ郷淳先生)

### 【参考文献】

- 1) Kumanogoh, A. *et al.* : *Immunity*, **22**, 305 (2005).
- 2) Okuno, T. *et al.* : *J. Immunol.*, **184**, 1499 (2010).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-22811	Anti Mouse Sema4A, Monoclonal Antibody	免疫化学用	100µl	30,000
016-22821	Anti Mouse Sema4D/CD100, Monoclonal Antibody	免疫化学用	100µl	30,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-22381	Anti DYKDDDDK tag, Monoclonal Antibody	免疫化学用	200µg	24,000
014-22383			1mg	48,000
012-22384			5mg	77,000
296-69901	ImmunoStar® LD	プロテイン用	200cm <sup>2</sup>	8,000
292-69903			1,000cm <sup>2</sup>	30,000
290-69904			2,000cm <sup>2</sup>	48,000

## 神経、筋肉などの電気生理の研究に！

### イオンチャンネル作用物質

イオンチャンネルは、細胞内外における各種イオン ( $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Cl^-$ ) の濃度や膜電位の調節、神経や筋肉などの活動電位の発生に関与しています。

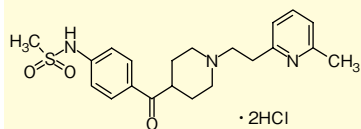
#### E-4031

心筋活動電位の再分極を担うHERG (Human *ether-a-go-go* related gene)  $K^+$ チャンネルのブロッカーです。抗不整脈作用があります。

含量(HPLC)：98.0%以上

水溶状：試験適合

CAS No.：113559-13-0



$C_{21}H_{27}N_3O_3S \cdot 2HCl = 474.44$

#### ガバペンチン

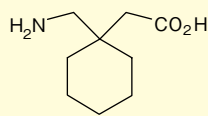
電位依存性 $Ca^{2+}$ チャンネル  $\alpha_2\delta$  サブユニットに作用し、GABA神経系を亢進させます。

含量(HPLC)：99.75%

(初回ロット実績値)

水溶状：試験適合

CAS No.：60142-96-3



$C_9H_{17}NO_2 = 171.24$

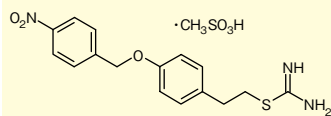
#### KB-R7943

NCX ( $Na^+/Ca^{2+}$  exchanger) の阻害剤です。心筋虚血、再灌流障害を抑制すると言われています。

含量(HPLC)：98.0%以上

水溶状：試験適合

CAS No.：182004-65-5



$C_{16}H_{17}N_3O_3S \cdot CH_3SO_3H = 427.50$

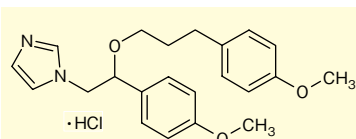
#### SKF96365

TRP (Transient receptor potential) カチオンチャンネルブロッカーです。受容体介在性や電位依存性の $Ca^{2+}$ 流入を阻害します。

含量(HPLC)：98.0%  
以上

水溶状：試験適合

CAS No.：130495-35-1



$C_{22}H_{26}N_2O_3 \cdot HCl = 402.91$

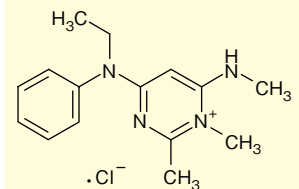
#### ZD7288

心臓の洞房結節に作用し、過分極誘発性陽イオン電流 (IfまたはIh) の発生を阻害します。

含量(HPLC)：98.0%以上

水溶状：試験適合

CAS No.：133059-99-1



$C_{15}H_{21}ClN_4 = 292.81$

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
054-07921	E-4031	細胞生物学用	10mg	30,000
050-07923			50mg	120,000
076-05641	Gabapentin	細胞生物学用	200mg	9,000
072-05643			1g	30,000
114-00851	KB-R7943	細胞生物学用	10mg	34,000
193-15591	SKF96365	細胞生物学用	5mg	15,000
199-15593			25mg	60,000
269-01971	ZD7288	細胞生物学用	10mg	32,000
265-01973			50mg	128,000

## マンゴスチン抽出物



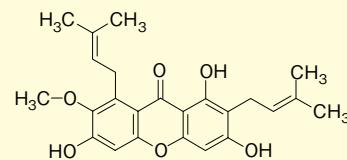
### $\alpha$ -マンゴスチン

$\alpha$ -マンゴスチンは、マンゴスチン果皮に含まれているキサントン誘導体です。ミトコンドリアが関与するアポトーシス誘導経路に作用すること、また、がん細胞選択的にアポトーシスを誘導することが報告されています。

外観：うすい黄色～黄色、結晶性粉末～粉末

含量(HPLC)：97.7% (初回ロット実績値)

エタノール溶状：試験適合



$C_{24}H_{26}O_6 = 410.46$

#### 【参考文献】

- 1) Itoh, T. *et al.*: *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 4005 (2008).
- 2) Akao, Y. *et al.*: *Int. J. Mol. Sci.*, **9**, 355 (2008).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
132-16241	$\alpha$ -Mangostin	細胞生物学用	5mg	12,000

## プロテオーム関連試薬

MALDI-MS のキャリブレーションに…

### MALDI-MS 用キャリブラント

本品はタンパク質などの生体高分子の分析に汎用されている matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) mass spectrometry 用のペプチドスタンダードです。高純度に精製され、MALDI-TOF-MS 試験をクリアしています。

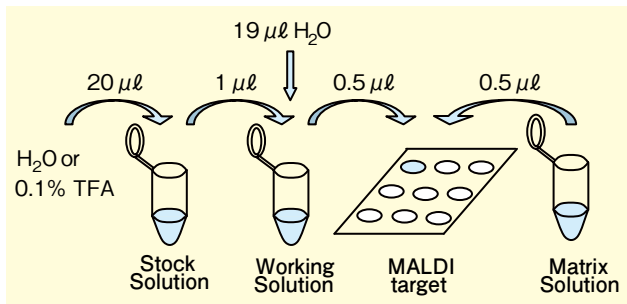
#### 特長

- 高純度
- 分子量が約 500 刻みでサンプルに応じた最適なキャリブラントの選択が可能
- 経済的で使いやすい容量

#### 品質保証

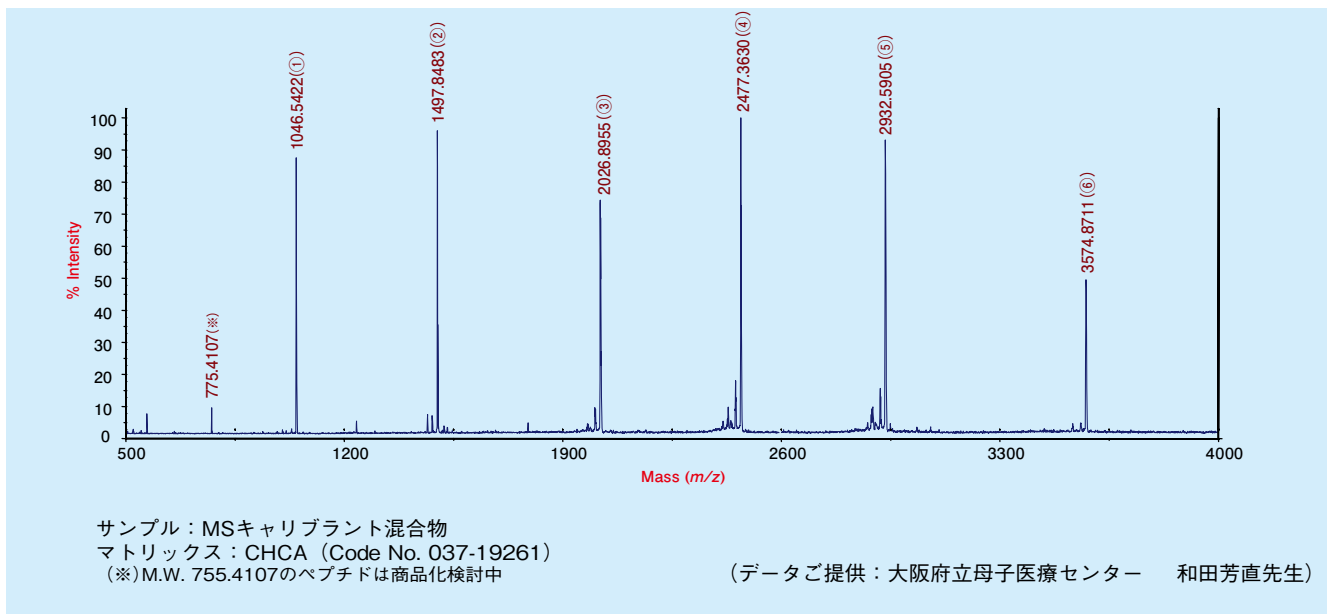
- MALDI-TOF-MS：試験適合

#### 使用例

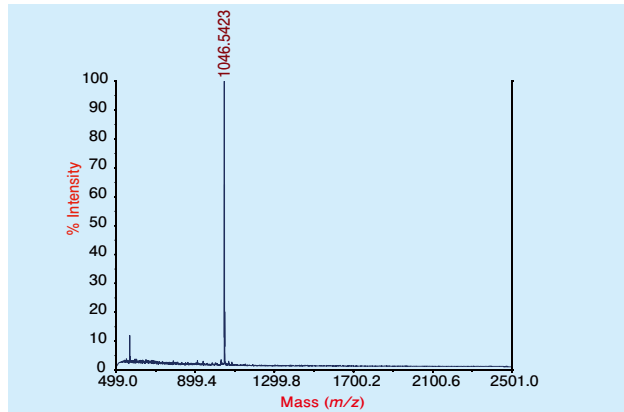


#### データ：MS チャート

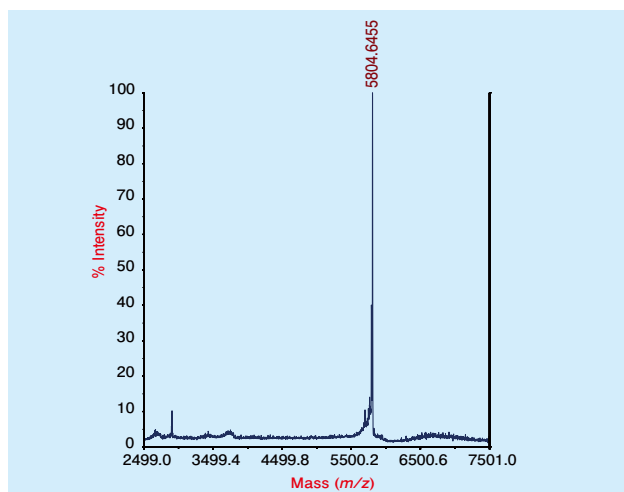
##### ■ キャリブラント混合物



##### ■ Angiotensin II (①)



##### ■ Insulin (⑦)





コード No.	品名	(M+H) <sup>+</sup> (monoisotopic)	規格	容量	希望納入 価格(円)
① 019-22931	Angiotensin II (Human)	1046.5423	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
015-22933	MALDI-MS Calibrant		2nmol×5 本	28,000	
② 017-22971	[D-Arg <sup>1</sup> ,D-Pro <sup>2</sup> ,D-Trp <sup>7,9</sup> ,Leu <sup>11</sup> ]- Substance P MALDI-MS Calibrant	1497.8483	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
013-22973			2nmol×5 本	28,000	
③ 016-22941	Apamin MALDI-MS Calibrant	2026.8944	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
012-22943			2nmol×5 本	28,000	
④ 160-24251	PAMP (Rat) MALDI-MS Calibrant	2477.3642	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
166-24253			2nmol×5 本	28,000	
⑤ 014-22981	ACTH (Human, 1-24) MALDI- MS Calibrant	2932.5885	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
010-22983			2nmol×5 本	28,000	
⑥ 013-22951	Adrenomedullin (Human, 22- 52) MALDI-MS Calibrant	3574.8770	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
019-22953			2nmol×5 本	28,000	
⑦ 090-05881	Insulin (Human) MALDI-MS Calibrant	5804.6455	プロテオーム 研究用	2nmol×1 本	8,000
096-05883			2nmol×5 本	28,000	

## 高純度マトリックス

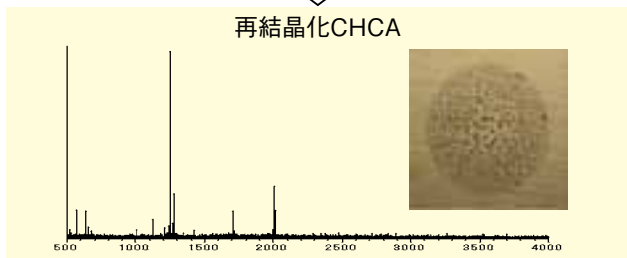
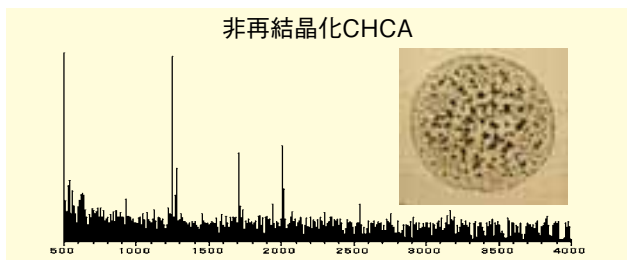
**α-シアノ-4-ヒドロキシフェイ酸【CHCA】**

**2,5-ジヒドロキシ安息香酸【DHB】**

**シナピン酸【SA】**

本品は再結晶処理により高純度に精製されたマトリックスです。ノイズが少なく、高いS/N比のマススペクトルが得られます。またシナピン酸は、飽和溶液が作りやすいように、溶解性が高められています。

### 使用例



(データご提供：大阪府立母子医療センター 和田芳直先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入 価格(円)
037-19261	α-Cyano-4-hydroxycinnamic Acid 【CHCA】	プロテオーム研究用	50mg×5 本	20,000
044-29101	2,5-Dihydroxybenzoic Acid 【DHB】	プロテオーム研究用	50mg×5 本	20,000
192-13361	Sinapic Acid 【SA】	プロテオーム研究用	50mg×5 本	20,000

## ゲル内消化酵素

**リシルエンドペプチダーゼ<sup>®</sup>, 質量分析グレード**

**トリプシン, ブタ膵臓由来, 質量分析グレード**

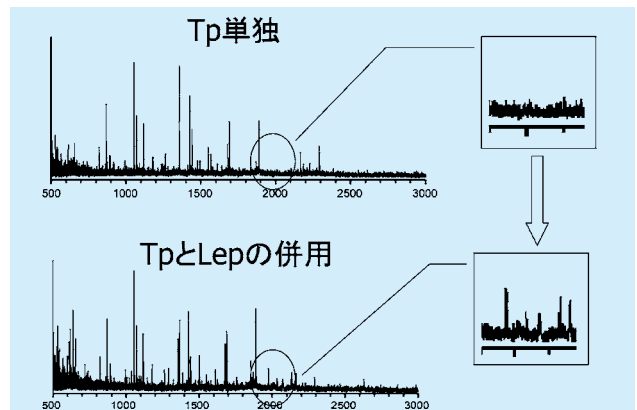
本品はゲル内消化に汎用されるトリプシン (Tp) とリシルエンドペプチダーゼ (LEP) です。

トリプシンは還元メチル化により自己消化を低く抑えています。

リシルエンドペプチダーゼは、タンパク質の切断部位を特異的かつ効率的に分解でき、ペプチド質量によるデータベース検索が容易になると言われています。

また、トリプシンとリシルエンドペプチダーゼを併用することにより、リシン残基における切断の確実性が増し、得られるペプチド数が増加すると報告されています。

### 使用例



(データご提供：大阪府立母子医療センター 和田芳直先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入 価格(円)
125-05061	Lysyl Endopeptidase <sup>®</sup> , Mass Spectrometry Grade	プロテオーム研究用	20μg×5 本	17,500
202-15951	Trypsin, from Porcine Pancreas, Mass Spectrometry Grade	プロテオーム研究用	20μg×5 本	15,000

## MS 用染色キット

**銀染色 MS キット**

**ネガティブゲル染色 MS キット**

銀染色 MS キットは、従来の銀染色キットに含まれるグルタルアルデヒドを除くことにより、ゲル内消化効率を高めているため、質量分析に最適です。ネガティブ染色 MS キットはタンパク質が色素による修飾を受けないため質量分析に有効です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入 価格(円)
299-58901	Silver Stain MS Kit	電気泳動用	20 回用	19,000
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	電気泳動用	20 回用	17,000

## アルツハイマー病の研究に！

### 老人斑選択的蛍光プローブ【BF-168】

### 神経原線維変化選択的蛍光プローブ【BF-170】

アルツハイマー病脳では、 $\beta$ アミロイドが凝集した老人斑とりん酸化タウが凝集した神経原線維変化が観察されます。このうち、老人斑を比較的選択的に染色する蛍光プローブがBF-168、神経原線維変化を比較的選択的に認識する蛍光プローブがBF-170です。

#### 特長

- 簡単な操作で短時間に染色できる  
(免疫組織染色のおよそ1/3の染色時間)

#### 測定波長

	励起波長 (nm)	蛍光波長 (nm)
BF-168	380-420	450 以上
BF-170	450-490	520 以上

#### データ

##### BF-168



アルツハイマー病患者切片の染色。免疫染色と同様に老人斑選択的に染色できた。

(データご提供：東北大学未来医学工学治療開発センター 工藤幸司先生)

##### BF-170



アルツハイマー病患者切片の染色。免疫染色と同様に神経原線維変化選択的に染色できた。

(データご提供：東北大学未来医学工学治療開発センター 工藤幸司先生)

#### 【参考文献】

- 1) Kitamoto, T. *et al.* *Lab. Invest.*, **57**, 230 (1987).
- 2) Okamura, N. *et al.* *J. Neurosci.*, **24**, 2535 (2004).
- 3) Okamura, N. *et al.* *J. Neurosci.*, **25**, 10857 (2005).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-16361	BF-168 (老人斑選択的)	細胞生物学用	1mg	15,000
026-16371	BF-170 (神経原線維変化選択的)	細胞生物学用	1mg	15,000

#### 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)
組織染色キット				
299-56701	Amyloid $\beta$ -Protein Immunohistostain Kit	免疫組織染色用	50 回用	110,000
合成アミロイド $\beta$ -プロテインペプチド				
330-43071	Amyloid $\beta$ -Protein (Human, 1-40)	(ペプチド研究所, 4307-V)	0.5mg	18,000
338-43491	Amyloid $\beta$ -Protein (Human, 1-42)	(ペプチド研究所, 4349-V)	0.5mg	30,000
014-18951	Amyloid $\beta$ -Protein (1-40) (Hydrochloride)	生化学用	1mg	48,000
011-18961	Amyloid $\beta$ -Protein (1-42) (Hydrochloride)	生化学用	1mg	54,000
組換えタウタンパク質				
201-17621	Tau-352 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
208-17631	Tau-381 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
205-17641	Tau-383 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
202-17651	Tau-410 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
209-17661	Tau-412 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
203-17681	Tau-441 Protein, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	50 $\mu$ g	38,000
タウ凝集阻害剤				
133-06962	Methylene Blue	試薬特級	25g	3,800
リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体				
014-20281	Anti Phosphorylated $\alpha$ -Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64)	免疫化学用	50 $\mu$ l	30,000

## Information



RNA 研究に...

### 「尿素入り変性ポリアクリルアミドゲル」

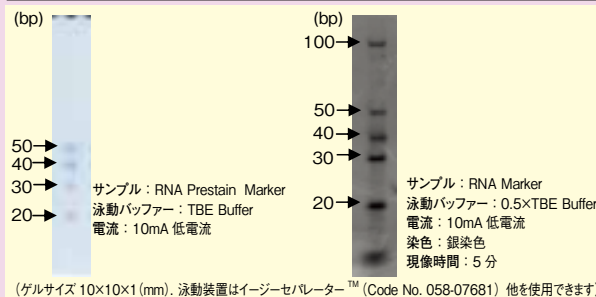
#### 試作品のご案内

Ready-to-use の尿素入り変性ゲルです。RNAなどを変性状態で電気泳動する際にご利用いただけます。

手作りされた製造直後のゲルと比較すると若干バックグラウンドが高い傾向があります。しかし、Ready-to-use のプレキャストゲルタイプですので、尿素の溶解など面倒で時間のかかる作業がありません。

試作品をご用意しておりますので是非お試しください。

申込先: [jiho@wako-chem.co.jp](mailto:jiho@wako-chem.co.jp)



## 便利な溶液タイプ



### 5-フルオロオロチン酸 DMSO 溶液

5-フルオロオロチン酸 (5-FOA) は、Orotidine-5'-P (OMP) Decarboxylase を合成する酵母細胞に対してのみ致死作用を有します。したがって、OMP Decarboxylase 遺伝子を持つ酵母菌株の選択が行えます。

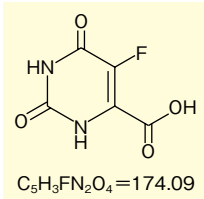
本品は、溶解しにくい5-FOAをDMSOに溶解した製品です。目的の終濃度に合わせて培地に添加するだけで使用できます。溶解の手間がかかりません。

### 特長

- 使いやすい溶液タイプ
- 酵母の選択マーカーとして有用
- フィルター滅菌済 (0.22 μm フィルター)

### 製品概要

- 濃度：100mg/ml
- 溶媒：DMSO
- 使用期限：2年



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
060-05481	100mg/ml 5-Fluoroorotic Acid DMSO Solution	遺伝子研究用	5ml	12,000

### 関連商品

#### 安価な粉末タイプ

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
060-03661	5-Fluoroorotic Acid Monohydrate	遺伝子研究用	1g	12,000
066-03663			5g	44,000
064-03664			10g	74,000

#### DNase 活性、RNase 活性チェック済み (粉末タイプ)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
064-04921	5-Fluoroorotic Acid Monohydrate	分子生物学用	1g	13,000
060-04923			20g	140,000

## エチジウムブロマイドを含む廃液やゲルの処理を簡単・安全に!



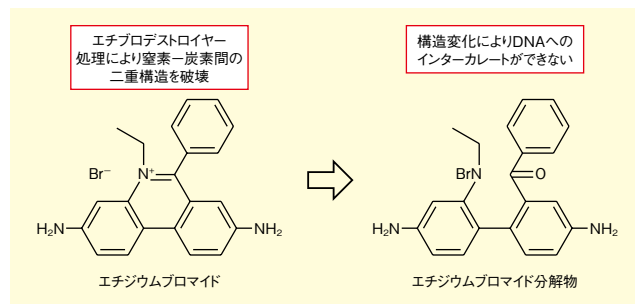
### エチプロデストロイヤー

エチプロデストロイヤーは、変異原性が疑われるエチジウムブロマイド (EtBr) を分解し、変異原性を除去する製品です。エチジウムブロマイドを含む廃液や染色ゲルにはバッグタイプを使用します。1パックで30mgのエチジウムブロマイドを分解除去できます。実験台や装置などの汚染除去にはスプレータイプを使用します。エチジウムブロマイド以外にも、SYBR Green、SYBR Gold、SYPRO ORANGE も分解除去できます。

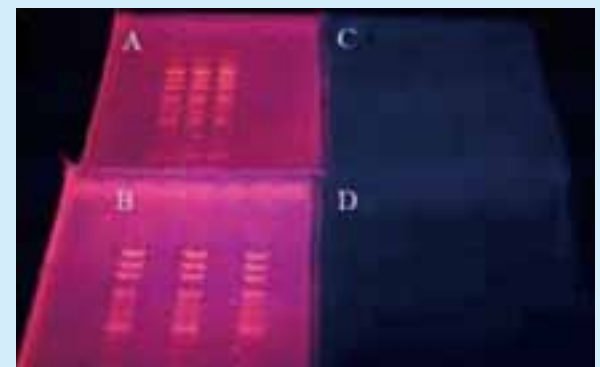
### 特長

- エチジウムブロマイドの構造を変換
- エチジウムブロマイド分解物は AMES 試験で変異原性が無いことを確認済み
- SYBR Green、SYBR Gold、SYPRO ORANGE にも適用可能

### エチジウムブロマイド分解のメカニズム



### 使用例 エチジウムブロマイドを含むゲルの処理



ゲルA、B：蒸留水に浸漬  
ゲルC、D：蒸留水 + EtBr Destroyer Bag に浸漬  
どちらも24時間後に撮影  
⇒C、DはUV照射によって蛍光消滅を確認

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格 (円)
303-89321	FAEBD001	EtBr Destroyer Bag	20個	25,400
300-89331	FAEBD002	EtBr Destroyer Sprayer(スプレーヘッド付)	200ml×2本	12,000

※ 廃液及びバッグはご所属の施設のルールに従い廃棄して下さい。

### 関連商品

コード No.	品名	メーカーコード[メーカー名]/規格	容量	希望納入価格 (円)
315-90051	EtBr Solution	[(株)ニッポンジーン]	10ml	9,000
051-07811	Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1g	5,000
057-07813			5g	14,200
518-24031	GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in DMSO	41002 [Biotium, Inc.]	0.5ml	27,000
519-20301	GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in Water	41003 [Biotium, Inc.]	0.5ml	28,400
551-93331	GelGreen™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in DMSO	41004 [Biotium, Inc.]	0.5ml	23,000
517-53333	GelGreen™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in Water	41005 [Biotium, Inc.]	0.5ml	28,000

## ルイ・パストゥール (1822. 12. 27 ~ 1895. 9. 28)

化学史家 島尾 永康

## エコール・ノルマル

ルイ・パストゥールは小さな革なめし業者の5人の子供の第3子としてドールで生まれた。5歳のとき、ジュラ山脈の麓の、人口8,000のアルポワに移りそこで成人したので、そこが故郷となった。つましい職人の家庭に育ったので、家族思い、真面目さ、勤勉、経済的な安定への関心が身に着いた。中学時代、成績は普通だったが、絵の才能は抜群で、かれが描いた両親の優れた肖像画が保存されている。15歳のとき学業に意欲が出て、あらゆる賞を総なめにしたので、校長はパリのエコール・ノルマル・シュペリウール(高等師範学校)の受験を勧めた。ナポレオンのイベリア半島の戦いに従軍したことを誇りにしていた父親は無学で、ルイが地方のリセ(高等中学)の教師になってくれればよいがと思っていたが、ルイは大きな野心をもつようになった。ブザンソンの学校で文学のバカロレア(大学入学資格)学位を取り、さらに1842年、科学のバカロレアを取った。エコール・ノルマルに入学許可となったが、志願者22名中の15位という席次が気に入らず、入学を辞退した。同じ年の秋、土木技師になることを考えて、エコール・ポリテクニク(理工科学校)を受験したが合格しなかった。そこで1年かけてエコール・ノルマルへの入学準備のためパリのサン・ルイ校で学んだ。ソルボンヌの大講堂で800人の受講者の一人として、デュマ教授の講義を聴いて、化学に興味をかきたてられたのもこのときである。学年の終わりにサン・ルイ校で物理学で首席となり、エコール・ノルマル理科志願者名簿の4位となって入学した(1843)。

エコール・ノルマルには優れた学者がいた。化学教授バラール(1802-1876)は、モンペリエの薬剤師だった23歳のとき、臭素元素を発見して大きな注目を浴び、パリに出てソルボ



図1. パストゥール、30歳、ストラスブール大学教授。

ヌ大学教授にもなった。簡素な装置と手作りの試薬で実験の技をふるうのを好んだ。鉱物学教授ドラフォスは結晶学の創始者アユイの弟子である。有機化学が科学として成熟しかけたこの時期の重要な化学者で、のちにコレージュ・ド・フランス教授の地位をバラールと争うことになるローラン(1807-1853)が、このころバラールの研究室にいた。パストゥールはこの3人から大きな影響を受ける。1846年に卒業してバラールの助手に任命され、1847年、物理学と化学の2篇の論文によって理学博士となった。

## ラセミ酸の分割・分子不斉

1812年にコレージュ・ド・フランスの物理学教授ビオ(1774-1862)が、石英が偏光面を面の厚さに比例して回転させることを発見した。1815年にビオはまた、砂糖、ショウノウ、酒石酸、テレピン油、タンパク質などの天然有機物の溶液でも光学活性が現れることを発見した。石英の光学活性は結晶の性質であるが、有機化合物の溶液の光学活性は分子の性質と考えた。結晶の対称性から現れる面のうち半分だけが結晶形に現れるものを半面像という。アユイとその弟子ドラフォスは石英に半面像があり、右に傾くものと、左に傾くものがあることを観察した。アユイとドラフォスの結晶学的観察と、ビオの物理学的観察とを結びつけたのは、イギリスの天文学者ジョ

ン・ハーシェルである。かれは石英の旋光能がその結晶構造を表していることを証明した。

発酵したブドウ果汁の中から酒石(酒石酸カリウム)が得られることはギリシア時代から知られていた。1769年に酒石酸を遊離したのはシェーレである。第二の酒石酸が北フランスのタンで粗製の酒石酸から得られた。1828年、ゲー・リュサックはこれをラセミ酸(ブドウの房の意)と命名し、酒石酸と同成分であるとした。1830年、ベルセリウスは酒石酸とラセミ酸は異性体であるとし、後者をパラ酒石酸と命名した。ビオは1832年、酒石酸が光学活性で、右旋性であることを示し、1838年、パラ酒石酸は光学不活性であることを見出した。1841年、精密な研究者として知られていたド・ラ・プロヴォステューは酒石酸とパラ酒石酸、およびそれらの塩の各種の結晶の研究を発表した。パストゥールはこの論文を研究し、自らも酒石酸とその塩の結晶を研究したところ、すべての酒石酸にはまがうことなく半面像が認められたが、ド・ラ・プロヴォステューはそれを見落としているという興味ある事実に気がついた。パストゥールは実験を繰り返し、酒石酸には半面像があるが、パラ酒石酸にはないことを確認した。

その矢先パストゥールの注目を引いたのが、ビオによって科学アカデミーに伝えられたベルリン大学教授ミッテルリッヒ(1794-1863)の短信(1844)である。それは、酒石酸ナトリウム・アンモニウムとパラ酒石酸ナトリウム・アンモニウムとは、化学組成、結晶形、比重、複屈折、水溶液の屈折率がいずれも同じであるが、ただ水溶液では酒石酸塩は光学活性で、パラ酒石酸塩は不活性である。これでも1823年のシュヴールールの化学種の定義(化合物の原子の数、比率、配置が同じであれば、同一の種に属する。)によれば、同一の化合物ということになるの

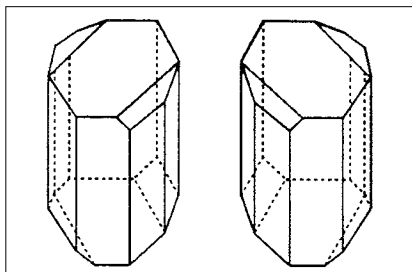


図2. 酒石酸ナトリウム・アンモニウムの半面像結晶。右旋性と左旋性。

ではないか、とそれはシュヴルールの定義への挑戦であった。パストゥールはこれを読んで、半面像への言及がないことから、ミッチェルリッヒもそれを見落としたのではないかと考えた。そこでただちに酒石酸ナトリウム・アンモニウムとパラ酒石酸ナトリウム・アンモニウムの結晶を作り、組織的に観察し始めた。すぐに酒石酸ナトリウム・アンモニウムの結晶に半面像があること、また予想に反してパラ酒石酸塩にも半面像があることを見出した(図2)。ルーペで調べると、酒石酸塩の半面像は右向きだけだが、パラ酒石酸塩には右向きと左向きの両方があった。それらは右手と左手のような関係、実物と鏡面像の関係であった。そこで右向きと左向きのそれぞれの結晶を手で選別し、それぞれを水に溶かし、偏光計で調べた。右向きの結晶の溶液は右旋性、左向きの結晶の溶液は左旋性であり、二つの溶液を等量に混合すると、混合液は不活性な物質(ラセミ体)となることが分かった。パストゥールのこの最初の研究(1848年5月15日発表)が出世作となった。ときに26歳。

パストゥールの研究には二つの幸運がはたらいた。一つは酒石酸塩のうちナトリウム・アンモニウム塩だけが、不活性のパラ複塩を二つの成分に分割することができたことである。他の塩の結晶は完面像になり、半面像はできないのである。いま一つの幸運は、この実験が気温の低いパリでおこなわれたことである。26℃以上では酒石酸ナトリウム・アンモニウムは完面像にな

るからである。パストゥールが酒石酸とパラ酒石酸以外の物質から研究を始めていたら、光学異性の発見はなかっただろう。勿論、実験の巧みさ、粘り強さもある。近視だったことも有利に働いた。周囲の正常視覚者に見えないものも、かれには見えたといわれる。

この年パリは二月革命で騒然となった。5月末、闘争の都パリにいる息子をいつも気遣っていた母親が死んだ。傷心のパストゥールは文部省からディジョンのリセの物理学教師に任命された(9月)。ビオとバラールの働きかけがあったのであろうか、進行中の研究に配慮して、赴任は11月まで猶予された。そのディジョンに赴任してわずか数週間後に、ストラスブール大学理学部の化学の助教授が空席になったので、応募して指名を獲得した。ストラスブール大学に着任(1849年1月)して1カ月もたたないうちに、学長の次女にプロポーズして半年後に結婚した。ストラスブールに6年間いたのち、フランス最大の工業都市リールに新設されたリール大学理学部の化学教授兼学部長に転任し、3年後、母校のエコール・ノルマルに理科学長兼行政監督官として就任した(図1)。

1860年、かれはパリ化学会で「分子不斉」と題する、2講からなる講演をおこなって研究を回顧し、第1講で、「有機化合物の原子配列が不斉であると、その結晶は重ね合わせることでできない半面像をもった分子不斉を示す。分子不斉が存在することは光学活性によって明らかになる、」と述べた。これは立体化学という新しい科学を予想するものであり、1874年、22歳のファント・ホフと27歳のル・ベルによって、それぞれ独立に不斉炭素原子の概念が発見されたことで、パストゥールの生前にその基礎が築かれた。結晶と化学の独創的な研究は、パストゥールの業績のうちではあまり有名でないものである。その後パストゥールは実際問題に専念して、再び

結晶の研究に戻ることはなかったが、晩年にそれを深く後悔した。

第2講では、分子不斉と生命の関係が論じられる。1857年に一種のカビが光学不活性のパラ酒石酸塩を次第に左旋性にし、最終的には左旋性の結晶を生じたことを発見し、物質の非対称性と生命現象とのかわりについての信念を一層深くした。しかし光学活性の有機物質は実験室で合成することはできないことを認識した。それでもなお1850年代前半、パストゥールはあえてそのような合成実験を試みた。ストラスブール大学では、結晶の生成に非対称の力を及ぼそうと強力な磁石を作った。リール大学では、時計仕掛けのヘリオスタットと反射板による太陽光線の逆回しの装置を作って、発芽時の植物の生成過程に非対称な要素を与えようとした。ビオの忠告もあって、結局この種の実験は中止したが、生命現象に及ぼす非対称の力は見果てぬ夢となって長く残った。

## 発 酵

パストゥールはリール大学の教授だったとき、ビート糖の糖蜜を原料とする酒精工業の発酵の不具合について相談を受けた(1856)。これがかれの発酵研究のきっかけとされている。しかしすでに1849年にビオから発酵産物アミル・アルコールの光学活性を知らされて以来、発酵には関心をもっていた。発酵現象の近代化学的解釈は18世紀末のラヴォワジエに始まる。19世紀初めにゲー・リュサックが、ブドウ糖からアルコールと炭酸ガスが生じるアルコール発酵の方程式を提起した。しかし化学者は何が発酵をおこすかは論じなかった。1835年、カニャール・ド・ラトゥールが、アルコール発酵をおこなうのは生きた酵母である。それは楕円形または球形の植物であり、増殖するとした。細胞学者シュワンもキュッツィングもそれぞれ独立にこれを確認した。しかし、ベル

セリウス、リービッヒなど化学界の権威たちは、この発酵の生物説を認めなかった。パストゥールは化学者としての教育を受けたにもかかわらず、つねに自分の研究の中の生物学的な含蓄を見逃さなかった。「乳酸発酵についての報告」(1857)という短い論文が、パストゥールの20年間にわたる発酵研究の最初の論文である。アルコール発酵ほど産業的に重要視されていなかった乳酸発酵(酸乳、たとえばヨーグルト、を生じる発酵)をあえて選んだのは、高名で論争好きナリービッヒの発酵の化学説を打破するための戦略だったと考えられる。アルコール発酵にはすでに多くの研究が出ており、化学者もそれに関与する酵母が生物であることは認めていた。しかし乳酸発酵は、そのような酵母なしでおこるのではないかと考えられていた。したがって乳酸発酵こそが勝負どころだったのである。かれは乳酸発酵をおこすのはアルコール発酵の酵母とは異なる、乳酸酵母という微生物(1878年、セディヨによって提案された用語)であることを明らかにした。

「乳酸発酵についての報告」が発酵の生物説の宣言だったとすれば、それを実験的に証明してみせたのが、長文の古典的な論文、「アルコール発酵に関する報告」(1860)である。

これはリービッヒやベルセリウスの発酵の化学説に痛打を与えた論文となった。パストゥールは、アルコール発酵はラヴォワジエの化学式より複雑で、炭酸ガスとエチル・アルコールという古典的公式の要請する生成物のみならず、それまで人が注意しなかったグリセリン、コハク酸、さらに微量のセルロース、脂肪物質など多くの生成物が生じることを明らかにした。リービッヒは酵母にはタンパク質を含む物質が必要だとしたが、パストゥールは純粋に無機質な媒質のなかで発酵を起こすことに成功した。酪酸発酵の研究では、酸素がないところでは増殖し、

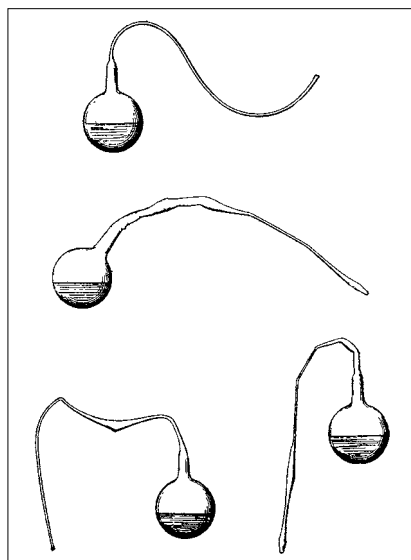


図3. 白鳥の頸型フラスコ(パストゥール、『自然発生説の検討』)。

酸素があると死滅する微生物が存在するという重大な発見をし、「好気性」、「嫌気性」の用語を創った。発酵と腐敗を識別し、それらの作用を意のままに制御できることを示した。微生物を飼ひならせるようになったのである。

### 自然発生説論争

自然発生(spontaneous generation)とは同種の生物によって先行されない生物体の生成のことである。さまざまな動物が自然に、つまり親なしに発生するという考えは古代では自明のことだった。アリストテレスも自然発生説を認めていた(『動物学』)。近代科学が始まった17世紀になると、顕微鏡を作ったレーエンフックは微生物の世界を発見し、自然発生説に反対した。18世紀にはジョン・ターバーヴィル・ニーダム(1713-1781)が、自然発生説を支持する実験を発表した(1849)。動物や植物の浸出液を、加熱したガラス瓶に入れて、コルク栓で遮断しておいても、微生物が発生することを報告したのである。浩瀚な『博物誌』で知られるビュッフォンがかれを後援したので、この発表は自然発生説を活気づけた。ニーダムの滅菌法は不十分であると批



図4. 晩年のパストゥール。

判したのはスパンツァーニ(1729-1799)である。かれは、フラスコをコルク栓でなく完全に密封し、浸出液を十分に加熱し、フラスコ中の空気が完全に滅菌されているときは、微生物は生じないことを証明した(1765)。

19世紀には、ルーアンの科学博物館館長プーシェが、自然発生説を強く支持する実験的研究を発表した(1858)。沸騰した水を満たしたフラスコを水銀槽中にさかさ立て、100℃に加熱された枯れ草と、強熱された酸素をこのフラスコに導入した。生きている芽胞を完全に排除したと考えられたにもかかわらず、数日後にフラスコ中に微生物が発生した。クロード・ベルナルによって代表される実証的精神が支配的だったフランス科学アカデミーは、プーシェの結論には否定的だった。しかしプーシェの実験を否定することもできなかった。プーシェは、パストゥールの乳酸発酵の論文に、自然発生説に批判的な文言があると反駁文を送ってきた。これがプーシェ・パストゥール論争の導火線となった。人々が古来手を焼いた自然発生論争に、パストゥールがまきこまれることをピオもデュマも思いとどまらせようとした。しかしパストゥールは1860年から1年のあいだに6篇の自



図5. ソルボンヌ大学の中庭のバストゥール像。バストゥールはバラールの後任としてソルボンヌ大学有機化学教授に就任した(1867)。

然発生に関する論文を次々に発表し、全面的に自然発生の研究にかかわった。科学アカデミーは、自然発生の問題の解明を賞金2,500フランの懸賞題目として提起していた。バストゥールは6篇の論文をまとめて、「大気中に存在する有機体性微粒子に関する報告。自然発生説の検討」(1861)という生物学史上モニュメンタルな意義をもつことになる論文を発表した。1862年12月、科学アカデミーの選考委員会は全員一致でバストゥールに授賞を決定した。さらにバストゥールを科学アカデミー会員にも選出した。

バストゥールが独創的な実験と完璧な論理的構成で証明したのは、煮沸された有機性の液が空気に接触するとき発生するすべての生物は、空中の芽胞に起源をもつという命題である。有名な白鳥の頸型フラスコは、自然発生論争でバストゥールを応援した師のバラールが示唆したものであるという(図3)。この実験は、煮沸された液を大気とは接触させるが、大気中の塵埃とは接触できない条件を作り出すと、液に生物は発生しないという命題を証明した。空気中の塵埃と微生物の発生の原因結果の量的対応関係についても、標高を異にする地点や、雑踏の

度を異にする地点の空気の比較研究がおこなわれた。『自然発生説の検討』はわずか百頁の小著にすぎないが、古代から19世紀まで続いた自然発生説にとどめを刺し、微生物学の出発点となった。ときにバストゥール39歳。

自然発生説論争はバストゥールの生涯のハイライトの一つとなった。自然発生論争は宗教的、思想的にさまざまな反響をまきおこした。その波紋が広がるなかで、1864年4月7日、バストゥールはソルボンヌの「科学の夕べ」講演会で啓蒙的な講演、「自然発生について」をおこなった。大講堂は立錐の余地もなかったが、自然発生、生命の起源、生物の進化に関する混乱した論争は、この講演後も沈静化しなかった。バストゥールは自然の産物のみが非対称性を示すことを認識したにもかかわらず、あえて自然を模倣して、上述のように化学現象に非対称性を導入しようとする実験を1850年前半におこなった。成果を挙げられずに終わったが、非対称を、すなわち生命を創り出す夢は生涯残った。表向きでは自然発生をきっぱり否定しながら、そのような思弁をうちに秘めていたのである。

### 科学のフリーランス

結晶学と化学と微生物学で基礎的な問題に貢献したにもかかわらず、すぐに実際問題へと関心がずれた。それを实地に移すことに並はずれた熱意と戦術をもっていた。実際問題への関心は発酵の研究から発展した。発酵の微生物説は産業と医学に大きい意味があった。ブドウ酒の「病気」の対策をめぐって開発された食品の低温滅菌、いわゆるバストゥーリゼーションの工夫は、実際問題における最大の貢献の一つである。結晶学から発酵を経て病気の研究へという進展について、「自分の研究はほとんど動かし難い論理によって繋がれている、」と述べている。次々に異なる専門分野に移るといふ離れ業を演じ、生物学の正規の訓練なし



図6. バストゥール研究所(1887年設立)のバストゥール像。

に微生物学を究め、自然発生論争の立役者にもなった。19世紀中葉のフランスの競争熾烈な学問の世界で、きわめて野心的で、機を見るに敏だった。類まれな実験の巧みさと、目的達成までの粘り強さは言うまでもないが、論争と自己宣伝の術に長けていたこともたしかである。一生を通じて騒々しさがつきまとった。論争では闘争的で痛烈だった。闘争はもって生まれた性格だった。45歳で脳卒中で倒れ、生涯の後半の30年間は半身不随での研究だった(図4, 5, 6)。

### 【参考文献】

Pasteur, L.: "Researches on Molecular Asymmetry", Alembic Club Reprint, No. 14 (1964).; Dubos, R. J.: "Louis Pasteur. Free Lance of Science". Little, Brown and Company (1950).; Geison, G. L.: "Louis Pasteur", *Dictionary of Scientific Biography*, Vol. X, pp. 350-416 (1974).; Geison, G. L.: *The Private Science of Louis Pasteur*, Princeton University Press (1995).; Conant, J. B. ed.: "Pasteur's Study of Fermentation", Harvard University Press (1952).; Conant, J. B. ed.: "Pasteur's and Tyndall's Study of Spontaneous Generation", Harvard University Press (1953).; Kauffman, G. B. and Myers, R. D.: "The Resolution of Racemic Acid", *Jour. Chem. Edu.*, 52, 777-781 (1975).; ヴァレリー・ラド著、桶谷繁雄訳:『ルイ・バストゥール』(富山房)(1941).; バストゥール著、山口清三郎訳:『自然発生説の検討』(岩波文庫)(1970).; 科学の名著10『バストゥール』(朝日出版社)(1981).; 川喜田愛郎:『バストゥール』(岩波新書)(1967).; 川喜田愛郎:『近代医学の史的基盤』, 下巻(1977).; ルネ・デュボス著、竹田美文訳:『ルイ・バストゥール』3巻(講談社学術文庫)(1979).

## 食品分析用

### トランス脂肪酸

トランス脂肪酸は、マーガリンやショートニングなどの硬化油の製造過程で水素添加などにより生成することが知られています。トランス脂肪酸の作用として、悪玉コレステロールといわれているLDLコレステロールを増加させることや、多量に摂取を続けた場合には、動脈硬化などによる虚血性心疾患のリスクを高めるなどの報告があります。これらの背景から、日本でも食品中のトランス脂肪酸含有量の表示に関するガイドラインの作成が進められています。

「基準油脂分析試験法」において、トランス脂肪酸含量の測定では、キャピラリーガスクロマトグラフ法が暫定法<sup>\*</sup>として採用されています。

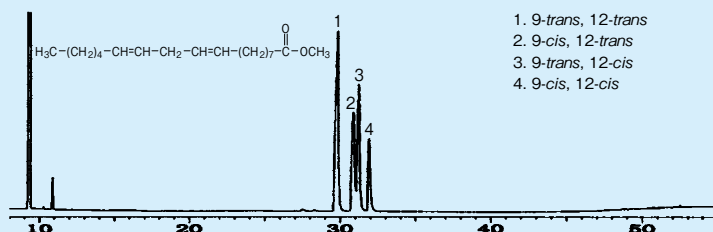
トランス脂肪酸の検出位置の確認に有用な、リノール酸メチルと $\alpha$ -リノレン酸メチルのトランス体を発売しました。

#### 【参考文献】

<sup>\*</sup>基準油脂分析試験法：暫 17-2007 トランス脂肪酸含量（キャピラリーガスクロマトグラフ法）

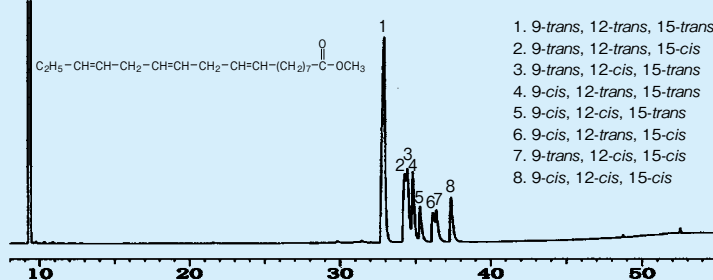
#### 分析例

##### ■ リノール酸メチルトランス化物



1. 9-trans, 12-trans
2. 9-cis, 12-trans
3. 9-trans, 12-cis
4. 9-cis, 12-cis

##### ■ $\alpha$ -リノレン酸メチルトランス化物



1. 9-trans, 12-trans, 15-trans
2. 9-trans, 12-trans, 15-cis
3. 9-trans, 12-cis, 15-trans
4. 9-cis, 12-trans, 15-trans
5. 9-cis, 12-cis, 15-trans
6. 9-cis, 12-trans, 15-cis
7. 9-trans, 12-cis, 15-cis
8. 9-cis, 12-cis, 15-cis

#### 【GC分析条件】

カラム：forteBPX90

サイズ：内径：0.25mm、長さ：100m、膜厚：0.25 $\mu$ m

検出器：FID

昇温条件：100 $^{\circ}$ C (2min)  $\rightarrow$  10 $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$

175 $^{\circ}$ C (30min)  $\rightarrow$  10 $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  280 $^{\circ}$ C (20min)

検出器槽：280 $^{\circ}$ C

試料気化室：250 $^{\circ}$ C

キャリアーガス：ヘリウム、1.0ml/min

スプリット比：1/20

注入量：10mg/ml ヘキサン溶液、1 $\mu$ l

<sup>\*</sup>分析条件は、当社の製品試験時の条件です。

### C18 トランス脂肪酸メチルエステル

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-16271	Methyl 9,12-Octadecadienoate Standard (mixture of <i>cis</i> - and <i>trans</i> -) (リノール酸メチルトランス化物)	食品分析用	200mg	28,000
130-16281	Methyl 9,12,15-Octadecatrienoate Standard (mixture of <i>cis</i> - and <i>trans</i> -) ( $\alpha$ -リノレン酸メチルトランス化物)	食品分析用	200mg	32,000

#### 分析用カラム

コード No.	メーカー [メーカーコード]	品名	長さ (m)	内径 (mm)	膜厚 ( $\mu$ m)	容量	希望納入価格(円)
515-80721	SGE International Pty. Ltd. [054596]	forteBPX90	100	0.25	0.25	1本	195,000

#### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
<b>内部標準物質</b>				
084-08661	Heptadecanoic Acid Standard	食品分析用	100mg	6,000
<b>メチルエステル化剤</b>				
029-06172	Boron Trifluoride Methanol Complex Methanol Solution (About 14 ~ 15% as BF <sub>3</sub> )	ガスクロマト	25g	2,200
021-06171		グラフ用	400g	9,300
<b>脂肪酸・脂質抽出用溶媒</b>				
041-31201	Diethyl Ether-Petroleum Ether (1 : 1)	食品分析用	1 $\ell$	3,500

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとしては使用できません。

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. 78 No. 2

2010年4月15日発行

発行責任者 糸 博之

編集責任者 鰐部梢子

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 [jjho@wako-chem.co.jp](mailto:jjho@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 49-2131-3111-0 / Fax 49-2131-311100