



〔総説〕

- 「アルキル Z 試薬：亜鉛(II)アート錯体を用いるケトン及びイミノエステルへの高効率 Grignard 付加反応の開発」
波多野 学、石原 一彰…………… 2
- 「環境・安全に配慮した独創的な水系硬化材料の開発」
天生 聡仁、安田 浩司、北川 浩隆、藤原 淑記、中村 一平…………… 6
- 「アルツハイマー病患者脳切片における老人斑・神経原線維変化の波長選択的な蛍光染色」 原田 龍一、工藤 幸司…………… 11
- 「創薬スクリーニングに有用な高感度かつ低コストの糖転移酵素およびキナーゼのアッセイ系の開発」
熊谷 和夫、小島 宏建、岡部 隆義、長野 哲雄…………… 14

〈テクニカルレポート〉

- 「蛍光標識未分化マーカーレクチン rBC2LCN【AiLecS1】 ～未分化ヒト万能性幹細胞を生きのまま検出する～」
新井 華子…………… 18

〔化学大家〕

- 「ピョートル・ペトローヴィチ・フォン・ヴェイマルン (ワイマルン)」
梶 雅範…………… 32

〔製品紹介〕

有機合成

- アルキル Z 試薬…………… 5
- 水溶性多官能アクリルアミドモノマー FFM-2…………… 10
- 位置選択的カップリング配位子 Cy-DHTP・HBF₄…………… 20

環境・分析

- シリカゲル 70F₂₅₄TLC プレート - ワコー…………… 20
- 生薬試験用標準品…………… 21
- フザリウムトキシシン混合標準液…………… 22
- ポジティブリスト関連標準品…………… 23
- 定量 NMR 用標準液…………… 36

細胞生物・生化学

- アルツハイマー病：老人斑・神経原線維変化特異的蛍光
プローブ BF-168、BF-170、BF-187、BF-188 …… 13
- フルオロスパーク™ キナーゼ / ADP マルチアッセイキット 17
- スーパーセップ™ Phos-tag® シリーズ…………… 24
- 活性酸素特異的蛍光プローブ…………… 26
- GLP-1 ELISA キットワコー、高感度品…………… 31

遺伝子

- MagCapture™ タマビジン® 2-REV…………… 25

病理

- 16w/v% パラホルムアルデヒド溶液、メタノールフリー …… 26

培養

- 未分化ヒト万能性幹細胞ライブセルイメージング試薬
rBC2LCN【AiLecS1】…………… 19
- 新規三次元培養培地 FCEM® シリーズ…………… 27
- 細胞培養用容器 G-Rex…………… 27
- CultureSure® 滅菌水、糖類、無機塩類…………… 28
- Y-27632…………… 28
- 汎用粉末培地、緩衝剤…………… 29
- コラゲナーゼ、精製品…………… 30
- rBC2LCN ストリッピング溶液【AiWashS1】…………… 30

〔お知らせ〕

- 和光純薬時報 Vol.82 No.4 訂正案内…………… 21

1 はじめに

アルコールは、医農薬品やファインケミカルズの合成に欠かせない工業的に重要な化合物である。アルコールの最も簡便な合成法のひとつは、有機金属反応剤を用いるカルボニル化合物へのアルキル付加反応である¹⁾。なかでも、歴史の古い Grignard 反応剤 (RMgX) は、今なお研究室での小スケールから工業的な大スケールまで広く用いられている²⁾。Grignard 反応剤は、安価なハロゲン化物 (RX) と金属マグネシウム (Mg) から安全かつ簡便に調製でき、比較的安定であるため、長期間保存できるという高い利便性を持つ。このため、市販品の数も優に 300 種類を超えている。しかし、実際に教科書通りに Grignard 反応剤でアルキル付加反応を行なったとき、反応性が高いアルデヒドとは異なり、反応性が低いケトン (1) では、思いのほか望む第三級アルコール (2) の収率が低かったという苦い経験をもつ読者は多いのではないだろうか (図 1 a)。実は多くのケトンについて、Grignard 反応剤は過剰量必要な上に、アルドール体 (3)、還元体 (4)、ピナコール体 (5) などが副生成する (図

1 b)³⁾。教科書に書かれていないこうした副反応は、極低温下でも制御が困難である。副反応の主な原因は、Grignard 反応剤の塩基性が求核性よりも勝っていることにある。この問題を解決するには、塩基性を最小限に抑え、求核性を最大限に高めた新たな反応剤を創製するしかない。そこで筆者らは Grignard 反応剤の原点に戻って解決を試みることにした。

2 Grignard 反応剤とマグネシウム(II)アート錯体⁴⁾

Grignard 反応剤を用いるケトンへのアルキル付加反応は、図 1a に示すように、通常は 1 分子のケトンと 2 分子の RMgX からなる六員環の協奏機構で進行する⁵⁾。この環状遷移状態では、2 分子の Grignard 反応剤は 1 つのアルキル基 (R) を共有し、1 分子目の RMgX の Mg 中心が強い Lewis 酸として機能する一方、2 分子目の RMgX の Mg 中心は過電子状態にあって、アルキル基 (R) が活性化されている。つまり、Grignard 反応剤が 2 分子間で正負に自発的に不均化して活性化することで、アルキル付加反応が進行する。そこで筆者らは、こうした効率の悪い不均化機構に頼らずに、錯イオン化により強制的に分極できる

アート錯体 (ate complex)⁶⁾に着目した。

例えば Mg(II) アート錯体 6 は、1 当量の Grignard 反応剤と 2 当量の有機リチウム反応剤から系中で速やかに調製できる (図 2、式 1)。しかし、この方法では、付加させたい Grignard 反応剤と有機リチウム反応剤のアルキル基 (R) を一致させる必要があり、導入できるアルキル基は限られる。そこで、1 当量の Grignard 反応剤と比較的安定な MeLi を 2 当量用いて、反応に直接関与しない 2 つの Me 基をダミー配位子とした [RMe₂Mg]⁻[Li]⁺[LiX] (7) を系中で調製して、これを反応に用いることにした (図 2、式 2)。その結果、目的のアルキル基 (R) の付加は Me 基の付加より圧倒的に優先し、アルキル基 (R) 選択的に生成物が得られた (図 3)。なお、通常の MeLi には一定量の LiBr が含まれており、筆者らは比較的早い段階でこれを用いるとよいことに気付いた。塩を含まない純粋な MeLi を用いた場合は、収率がややばらついた。このことは、Knochel らが報告している Grignard 反応剤への LiCl の添加効果 (ターボ Grignard 反応剤) や⁷⁾、後述する亜鉛(II)アート錯体における LiCl による塩効果とも符合している。

3 化学量論量の亜鉛(II)アート錯体を用いるアルキル付加反応⁸⁾

さらに筆者らは、Zn(II) アート錯体も高い反応活性を持つことを見つけた。しかも、亜鉛源には安価で安全な無機試薬である塩化亜鉛を使うことが

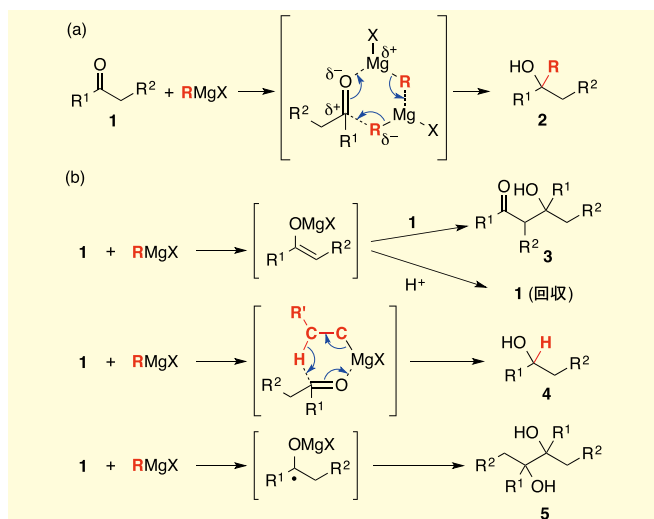


図 1. Grignard 反応剤を用いるケトンへのアルキル付加反応 (a) と副反応 (b)

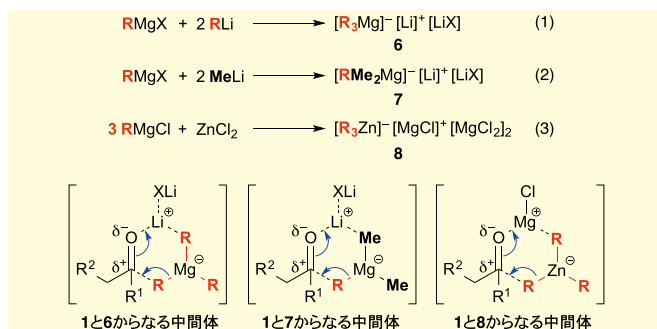


図 2. 各種アート錯体の調製法と活性化機構

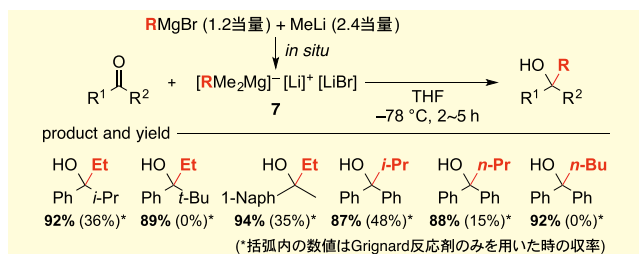


図3. 化学量論量のMg(II)アート錯体を用いるアルキル付加反応

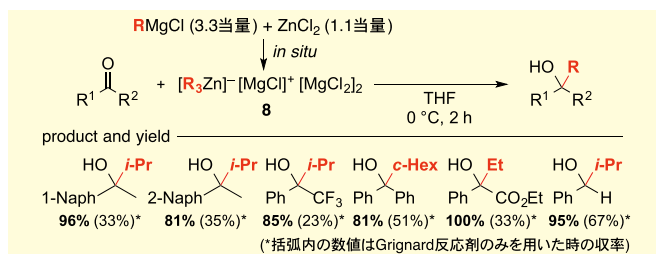


図4. 化学量論量の亜鉛(II)アート錯体を用いるアルキル付加反応

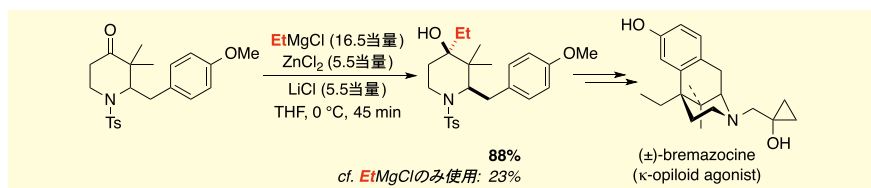


図5. 松尾らによるブレマゾシンの全合成⁹⁾

できた(図2, 式3)。調製時に若干の濁りや沈殿物を伴うこともまれにあるが、性能上は問題ない。Zn(II)アート錯体はMg(II)アート錯体よりも反応性が穏やかで、反応温度を0℃にしても制御可能で、様々なケトンに対して第三級アルコールを高収率で得た(図4)。さらに本技術を用いて、松尾らはκ-オピオイドのアゴニストであるブレマゾシンの全合成に成功した(図5)⁹⁾。Zn(II)アート錯体を用いた場合は、立体選択的なエチル基付加反応が進行し、88%収率で鍵中間体を得ている。

4 亜鉛(II)アート錯体を用いる触媒的アルキル付加反応¹⁰⁾

幸運にも、Zn(II)アート錯体を用いるアルキル付加反応は、塩化亜鉛を触媒量(10 mol%)にすることができた(図6)。これに伴い、化学量論反応時には3.3当量必要だったGrignard反応剤は1.3当量まで低減できた。副反応が起きやすい第二級アルキル基で

ある*i*-Pr基付加反応でも種々の基質について対応する生成物が高収率で得られた。また、一般にアルキル付加が困難とされる2-アダマンタノンにおいて、フォトレジスト材料の主原料である第三級アルコールのグラムスケール合成にも成功した。筆者らが知るかぎり、この例がケトンに対するGrignard付加反応の初めての触媒化の報告である。Grignard付加反応の触媒化の難しさは、触媒が関与することなく元来活性の高いGrignard反応剤のみで反応が無秩序に進行してしまうことにある。従ってZn(II)アート錯体触媒は、こうしたバックグラウンドの反応が無視できるほど高い触媒活性を持つことを示している。

5 修飾型亜鉛(II)アート錯体を用いる触媒的アルキル付加反応¹¹⁾

前述の化学量論量または触媒量のZn(II)アート錯体によるアルキル付加反応では、用いることができるGrignard反応剤は塩化物(RMgCl)

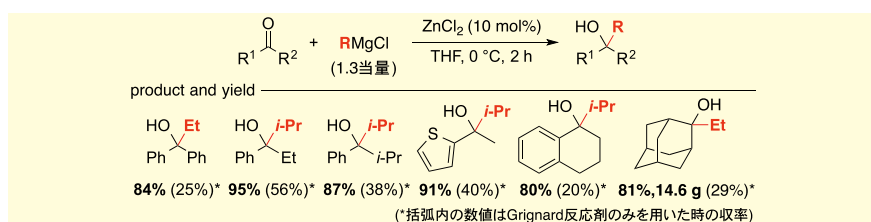


図6. 亜鉛(II)アート錯体を用いる触媒的アルキル付加反応

に限られていた。もし臭化物(RMgBr)やヨウ化物(RMgI)への適用ができれば、汎用性はより高くなる。そこで、Zn(II)アート錯体にもダミー配位子を導入することにした。この際、特にβ-ケイ素効果¹²⁾の見込まれるMe₃SiCH₂基を選んだ(図7, 式4)。すなわち、炭素-ケイ素間のσ結合から亜鉛の空のp軌道への電子の供与によって、目的のアルキル基(R)の反応性が大きく向上すると同時に(図7a)、亜鉛上から炭素-ケイ素間の反結合性σ*軌道への電子の逆供与により、炭素-亜鉛結合は強化され、Me₃SiCH₂基のダミー基としての効果が高くなると期待した(図7b)。検討の結果、この修飾型Zn(II)アート錯体触媒(9)ではRMgBrを用いても様々な基質で効率良くアルキル付加反応が進行し、対応する第三級アルコールを高収率で得た(図8)。この際、試行錯誤により、収率向上にLiClの添加が効果的だとわかった。これは、いわゆる塩効果であり⁸⁾、ハライド交換(BrからCl)とともに、対応するZn(II)アート錯体([R(Me₃SiCH₂)₂Zn]⁻[MgX]⁺[MgX₂]₂)における陽イオン交換([MgCl]⁺または[MgBr]⁺からLi⁺への交換)が起き、錯体の会合状態とケトンの活性化を制御していると考えられる。本反応では、メチル基導入においてMeMgIを利用できた。さらに、1-ナフチル基のような嵩高いアリアル基も導入できた。また、アルジミンは窒素上の置換基によってケトン以上に反応性が悪い場合があるが、本法では高収率で望む生成物が得られた。

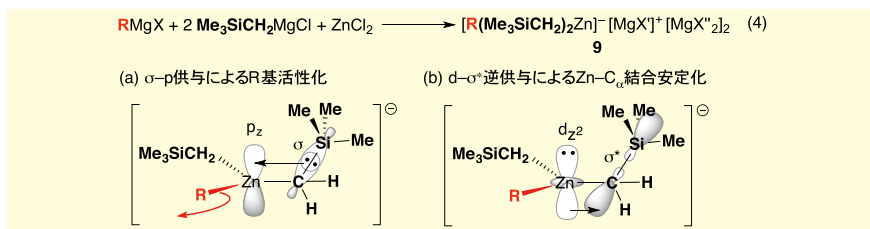


図7. 修飾型亜鉛(II)アートの錯体の調製と活性化機構

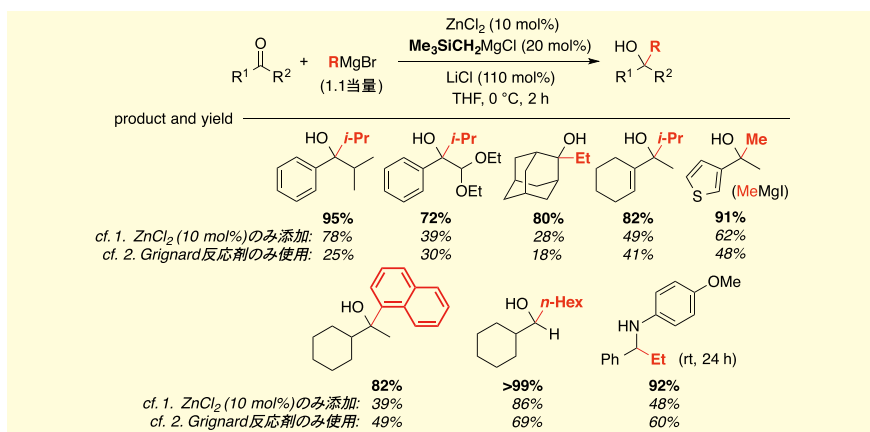


図8. 修飾型亜鉛(II)アートの錯体を用いる触媒的アルキル付加反応

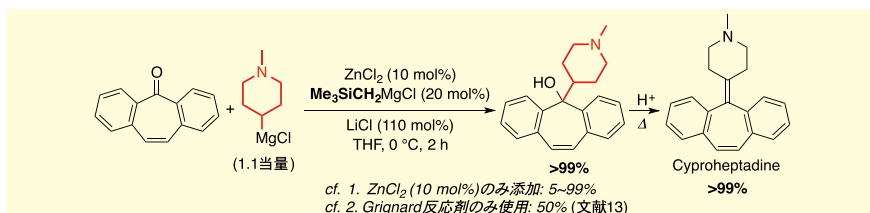


図9. シプロヘプタジンの合成

さらに、抗ヒスタミン剤であるシプロヘプタジンを合成した(図9)。メルク社の報告によれば、鍵となるアルキル付加反応の収率は50%に留まっている¹³⁾。一方、修飾型Zn(II)アートの錯体触媒(9)を用いると、目的の第三級アルコールが常に定量的に得られ、その後シプロヘプタジンへ定量的に変換した。

6 α -イミノエステルに対するイミノ炭素選択的アルキル付加反応¹⁴⁾

極性転換が生じている α -イミノエステル(10)は、イミノ炭素(path a)、イミノ窒素(path b)、エステル炭素(path c)に連続する3つの反応点が存在し、多様な分子変換が可能なアミノ酸前駆体である(図10)¹⁵⁾。そ

の反面、有機金属反応剤による位置選択的アルキル付加反応の制御は極めて困難で、通常は多種の生成物の混合物になる。これまでに、清水らによるpath bに始まるタンデム型の*N*-アルキル付加-C-アリル化等の先駆的な報告¹⁶⁾や、Kozłowskiらによるpath bに始まるタンデム型の*N*-アルキル付加-C-アシル化等の報告¹⁷⁾がある。しかし、path aに始まる選択的C-アルキル付加反応の報告はなかった。

ごく最近筆者らは、修飾型Zn(II)アートの錯体(9)を化学量論量用いて、

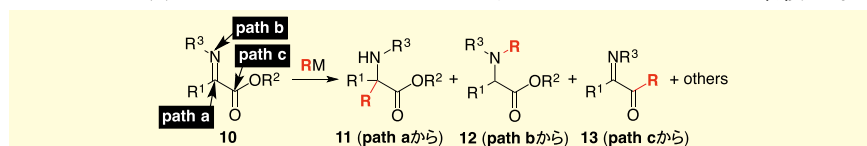


図10. α -イミノエステルへのアルキル付加反応

特に反応性が低いことで知られる α -ケチミノエステルに対して、イミノ炭素選択的アルキル付加反応の検討を行った。その結果、 β,γ -アルキニル- α -イミノエステル¹⁸⁾が、構造的理(*E* 体、*s-cis*-*N=C-C=O*)により例外的に非常に高い反応性を示した(図11)²⁰⁾。特に、高高いキラル8-フェニルメンチル基¹⁹⁾を導入した基質(14)を用いて、完璧な位置(path a)及び立体選択性(*dr* = >99:1)で光学活性 β,γ -アルキニル- α -アミノ酸誘導体(15)を収率よく得た。得られた生成物15はアルキニル基の(*E*)/(*Z*)選択的な部分還元や立体選択的な環化により、様々な合成上有用な光学活性化合物へ高収率で変換できた。

7 おわりに

本稿では、Grignard反応剤をもとにしたMg(II)アートの錯体およびZn(II)アートの錯体を用いるカルボニル化合物への高選択的付加反応について概説した。特にケトン为原料とするGrignard付加反応による第三級アルコールの合成は、いわゆる教科書通りには行かない反応のひとつであるが、本手法は副反応を大幅に低減できた。Grignard反応剤や塩化亜鉛は、安価で取り扱いも容易なため、スケラブルで工業化にも向いている。通常のGrignard付加反応を行う以上の特別な技術を必要とせず、確実に収率アップにつながる実用的で信頼性の高いアルキル付加反応として、今後もさらに磨きをかけたい。なお、和光純薬工業より、数種類の調製済みのZn(II)アートの錯体反応剤が『アルキルZ試薬』というシリーズ名で発売となった。Zはアルファベットの最後である

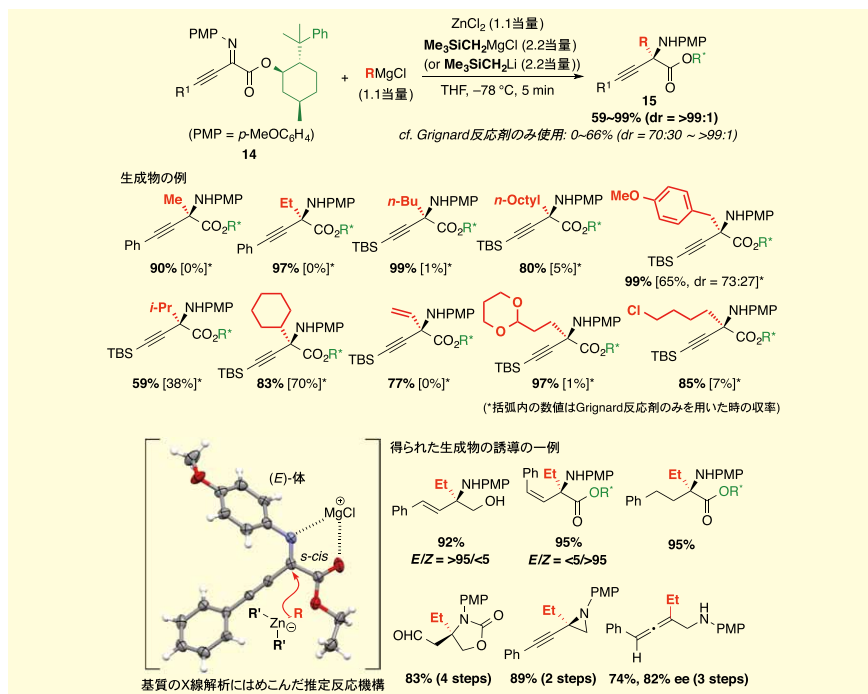


図 11. α -ケチミノエステルに対するイミノ炭素選択的アルキル付加反応

ことから、これより上位のものは存在しない・最終・最高・究極、などの意味で使われる。すなわち、『アルキルZ試薬』のZには、究極のアルキル化剤という意味と亜鉛試薬という意味の両方の意味を込めて名付けた。これらのアルキルZ試薬は調製時は透明な溶液だが、長期保存中の温度条件によっては無機結晶性の濁りや沈殿が生ずることがある。しかし、懸濁液または上澄み液のアルキル付加剤としての性能は調製から半年程度経過してもほぼ不変である。アルキルZ試薬が販売されることで、よりZn(II)アート錯体を用いることのハードルが下が

り、この研究分野が益々発展していくことを期待したい。最後に、本稿で紹介した研究は、日夜一生懸命に研究を進めてくれた共同研究者である松村季彦修士、鈴木伸治博士、伊藤織恵修士、山下賢二君(D1)、水野麻依さん(M1)の努力の賜物であり、深く感謝します。

【参考文献】

- (a) Hatano, M., Miyamoto, T. and Ishihara, K.: *Curr. Org. Chem.*, **11**, 127 (2007).; (b) Hatano, M. and Ishihara, K.: *Synthesis*, 1647 (2008).
- Wakefield, B. J.: "Organomagnesium Methods in Organic Chemistry", Academic Press, San Diego, CA (1995).
- 今本らは CeCl_3 、Knochel らは $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{LiCl}$ を用いて、ケトンに対する Grignard 付加

- 反応を報告している。(a) Imamoto, T., Takiyama, N., Nakamura, K., Hatajima, T. and Kamiya, Y.: *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4392 (1989).; (b) Krasovskiy, A., Kopp, F. and Knochel, P.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 497 (2006).
- Hatano, M., Matsumura, T. and Ishihara, K.: *Org. Lett.*, **7**, 573 (2005).
 - (a) Swain, C. G. and Boyles, H. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 870 (1951).; (b) Yamazaki, S. and Yamabe, S.: *J. Org. Chem.*, **67**, 9346 (2002).
 - Knochel, P.: "Handbook of Functionalized Organometallics", Wiley-VCH, Weinheim, Germany (2005).
 - Krasovskiy, A. and Knochel, P.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 3333 (2004).
 - Hatano, M., Suzuki, S. and Ishihara, K.: *Synlett*, 321 (2010).
 - Matsuo, J., Okado, R. and Ishibashi, H.: *Org. Lett.*, **12**, 3266 (2010).
 - Hatano, M., Suzuki, S. and Ishihara, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 9998 (2006).
 - (a) Hatano, M., Ito, O., Suzuki, S. and Ishihara, K.: *Chem. Commun.*, **46**, 2674 (2010).; (b) Hatano, M., Ito, O., Suzuki, S. and Ishihara, K.: *J. Org. Chem.*, **75**, 5008 (2010).
 - (a) Eaborn, C.: *J. Chem. Soc.*, 4858 (1956).; (b) Haaland, A., Green, J. C., McGrady, G. S., Downs, A. J., Gullo, E., Lyall, M. J., Timberlake, J., Tutukin, A. V., Volden, H. V. and Østby, K.-A.: *Dalton Trans.*, 4356 (2003).
 - Engelhardt, E. L., Zell, H. C., Saari, W. S., Christy, M. E., Colton, C. D., Stone, C. A., Stavroski, J. M., Wenger, H. C. and Ludden, C. T.: *J. Med. Chem.*, **8**, 829 (1965).
 - Hatano, M., Yamashita, K., Mizuno, M., Ito, O. and Ishihara, K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 2707 (2015).
 - (a) Dickstein, J. S. and Kozlowski, M. C.: *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 1166 (2008).; (b) Shimizu, M., Hachiya, I. and Mizota, I.: *Chem. Commun.*, 874 (2009).
 - Niwa, Y. and Shimizu, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3720 (2003).
 - Dickstein, J. S., Fennie, M. W., Norman, A. L., Paulose, B. J. and Kozlowski, M. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 15794 (2008).
 - Mizota, I., Matsuda, Y., Kamimura, S., Tanaka, H. and Shimizu, M.: *Org. Lett.*, **15**, 4206 (2013).
 - Yamamoto, Y. and Ito, W.: *Tetrahedron*, **44**, 5415 (1988).

アルキルZ試薬

高活性アルキル化剤

アルキルZ試薬は、Grignard試薬と亜鉛から調製される高活性アルキル化剤です。本品とケトンの反応では副生成物の生成が抑えられ、効率的に反応が進行します。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
058-09021	Ethylmagnesium Chloride-Zinc(II) Ate Complex, Tetrahydrofuran Solution (abt. 0.3mol/ℓ)	有機合成用	100ml	13,000
097-07091	Isopropylmagnesium Chloride-Zinc(II) Ate Complex, Tetrahydrofuran Solution (abt. 0.3mol/ℓ)	有機合成用	100ml	13,000

Grignard試薬の取扱いもごさいます。当社HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/chemical/Gr/index.htm>) をご参照下さい。

1 緒言

本稿で紹介する技術は、顧客にとって環境・安全に配慮した硬化性材料という新しい価値を提供するとともに、硬化性材料分野における分子設計のイノベーションを起こすものと考えている。

光や熱などの刺激によりバインダー等の場を硬化する特性は種々の産業用途に幅広く利用されている。例えば、コーティング材、塗料、印刷インク、接着剤、光学材料、電子材料、レジスト材等では、硬化性材料が適用されている。硬化性材料は、光や熱などの刺激を伝達する化合物（以下、開始剤）と、刺激付与された場を硬化させる化合物（以下、モノマー）を主成分として構成される。モノマーは硬化性を有する部位として、重合性基を内包する。

産業用途で広く用いるために、モノマーは高い硬化性を持つことが必要である。そのために同一分子内に複数の重合性基を含有する分子設計が有効である。このように同一分子内に複数の重合性基を有する化合物を本稿では多官能モノマー*と称する。

環境、安全という観点における多官能モノマーの重要課題は、ほとんどの化合物が水に難溶で有機溶媒にしか溶解しないことである。つまり、大気・環境汚染の原因物質として世界各国で使用量削減が求められている揮発性有機化学物質（VOC）に溶解して使うことになる¹⁾。もうひとつの課題は、

ほとんどの多官能モノマーで、化合物そのものが皮膚刺激性、感作性（アレルギー）を有することである。そのため使用時に、作業者は安全かつ慎重な取り扱いをしなければならない²⁾（図1）。

上記課題を解決するには、多官能モノマーがそもそも有している特性「硬化性」と「安定性」に加え、「水溶性」と「安全性」を含む4つの基本特性を満たす必要があるが、これらの特性は密接に関りあうためトレードオフとなる場合が多く、これまでに報告されている既存技術で解決することはできていなかった。

そこで我々は、顧客の強いニーズにお応えすべく、今までにない価値を持つ材料創出にチャレンジすることにした。富士フイルムが写真で構築した「独自の分子設計技術」と「量産可能な有機合成技術」を駆使することで実現できると考えたからである。

以下、本技術の詳細説明を行うが、前半で、従来技術の問題点と我々が着目した分子設計のポイントを基本特性間のトレードオフ解消という観点で解説し、後半で、達成した諸特性の説明と想定される用途の提案について記載する。

2 目標性能と既存技術の関係

開発に先立ち、上記4つの性能に対する目標と従来の分子設計・合成指針、トレードオフの関係について整理した（表1）。

水溶性は、水に対して10wt%以上

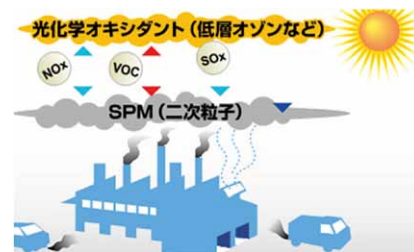


図1. 溶剤系モノマーの課題

出典：経済産業省ウェブサイト (<http://www.meti.go.jp/policy/voc/top/>) を編集して作成

の溶解性を有することを目標とした。分子内へのエチレンオキシ（EO）鎖、プロピレンオキシ（PO）鎖、又はイオン性基の導入等が有効と考えられたが、1分子あたりの重合性基密度の低下による硬化性の悪化や、製造適性上の問題で適用できなかった（図2）。

硬化性は、一般的にUV硬化性が高く、既存の架橋剤としてよく用いられている重合性基であるアクリレートと同等以上であることを目標とした。硬化性を高めるためには、重合性基の多官能化や重合性基密度の向上などの分子設計が考えられたが、この場合、分子が疎水化して水溶性を担保することができず、適用できなかった（図3）。

安定性は、高い耐加水分解性と、少しでも分解が懸念される連結鎖（ウレタン、（ヘミ）アセタール、（ヘミ）アミナル等の結合基）を含まないことを目標とした。加水分解しない重合性基（アリル基、ビニル基）や、化学的に安定な炭素-炭素結合のみの連結鎖の採用を考えたが、硬化性が悪化するトレードオフがあった（図4）。

安全性は、皮膚刺激性・感作性・変

表1. 目標性能・従来技術まとめ

項目	目標性能	従来の分子設計・合成指針	主なトレードオフ
水溶性	水への溶解性 10wt%以上	エチレンオキシ（EO）鎖、 プロピレンオキシ（PO） 鎖イオン性基の導入	硬化性・製造適性
硬化性	アクリレート同等 以上の硬化性	多官能化、重合性基密度 UP、低分子量化	水溶性
安定性	高い耐加水分解性	分子量 UP/ 重合性基変 更（メタクリレート等）	硬化性
安全性	皮膚刺激性・感作性・ 変異原性が無い		

* 通常は重合性多官能モノマーを称する

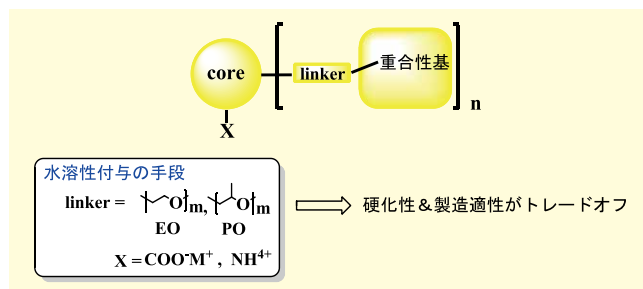


図2. 水溶性付与技術例

硬化性付与の手段

core, linker = compact & high density
n = 3, 4, 5, . . .

⇒ 水溶性がトレードオフ

図3. 硬化性付与技術例

安全性付与の手段

core, linker = high molecular weight
重合性基 = CH2=C(CH3)CO-

⇒ 硬化性がトレードオフ

図5. 安全性付与技術例

安定性付与の手段

core, linker = C-C結合
重合性基 = CH2=C(CH3)CH2-

⇒ 硬化性がトレードオフ

図4. 安定性付与技術例

異原性 (Ames) が無いことを目標とした。しかし、高分子量化や、アクリレート基からメタクリレート基への変更等の重合性基の反応性を低下させる設計も、硬化性悪化のトレードオフにより適用できなかった (図5)。

以上のことから、モノマーに要求される4つの目標性能について、それらを個々に向上させる技術はあるが、それぞれの性能は互いにトレードオフの関係となっていることがわかり、従来技術の適用では全ての性能を向上させることは困難であることがわかった (図6)。

低下、すなわち硬化性の低下に直結し、高純度化も困難になることが予想されるEO鎖、PO鎖、製造適性付与が難しくなるイオン性基、少しでも分解の懸念のある、ウレタン、(ヘミ)アセタール、(ヘミ)アミナル等の結合基を用いず、化学的に安定な炭素-炭素結合のみのコンパクトな連結鎖の採用で、水溶性、安定性、安全性を実現した。また、水溶性、安定性、硬化性を付与するために(メタ)アクリレート基ではなく、アクリルアミド基を採用した新規な構造を有している。

一般に、アクリルアミドの単分子は毒物、劇物に指定され、変異原性(発がん性)も確認されている安全上問題

従来技術

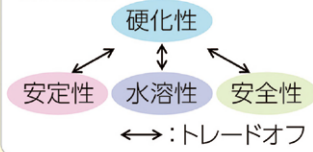


図6. 従来技術の適用によるトレードオフ

新規技術 複数のトレードオフ脱却に成功

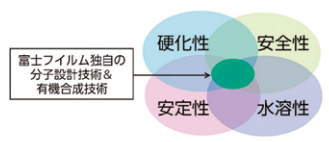


図7. 新規技術の開発

3 新規技術の開発

当社では独自の分子設計と有機合成技術を駆使することにより、従来技術の各々の適用だけでは解決できなかった複数のトレードオフの脱却を可能とし、高い硬化性、水溶性、安定性、安全性を実現する新規技術の開発に成功した (図7)。

4 モノマーの開発

先述した新規技術を適用し、新規水溶性多官能アクリルアミドモノマー (FFM-2) を開発した (図8)。

FFM-2は、既存の多官能モノマーで汎用されているポリオール(グリセリン、トリメチロールプロパン、ペンタエリスリトール等)とは異なる、多官能かつコンパクトな独自コアを採用している。連結鎖は、重合性基密度の

のある物質と世の中では認識されている。FFM-2はそれを分子内に4つ含有している構造であるにも関わらず、合成原料には使用しておらず、加水分解等でも発生しないことを確認できおり、アクリルアミド単分子は全く含

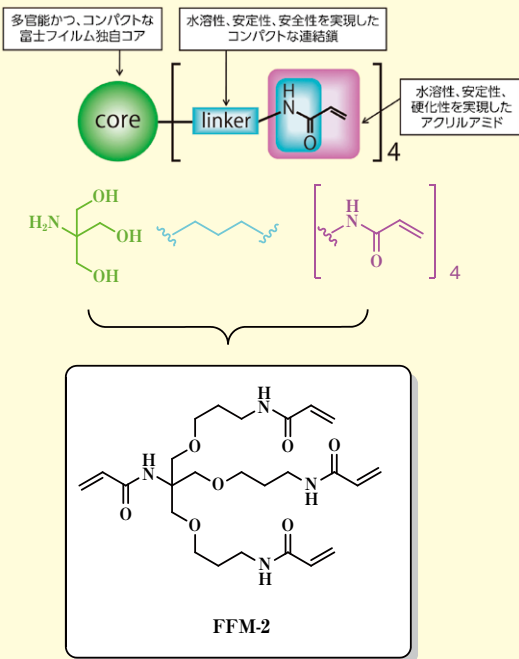


図8. 新規水溶性多官能アクリルアミドモノマー (FFM-2)

有していない。

5 各種性能の詳細評価

【硬化性の評価】

硬化性の評価は、大気下でUV露光を行い、露光中のアクリルピークの減少率をFT-IR光度計（フーリエ変換赤外分光光度計）を用いて測定し、重合率を算出する方法で行った。比較化合物としては、市販の4官能アクリレートモノマーであるペンタエリスリトールテトラアクリレート（以降TM-0と呼ぶ）を使用した。

その結果、FFM-2はTM-0と比べて硬化速度が速いことがわかった。また、酸素による重合阻害を受けにくいことも明らかになった（図9）。これは、低露光量（0 mJ/cm²～100 mJ/cm²）の際、顕著に現れている。

なお、測定には、モノマー（FFM-2又はTM-0）/開始剤（IRGACURE® 2959）/溶剤（MeOH）の比が10/1/40の組成物を用いた。

【水溶性の評価】

水と各種溶媒に対する溶解性を、液温30℃で24時間後の析出の有無を目視観察して調べた。その結果、水、メタノール、エタノールに対しては50wt%以上、イソプロパノールに対しては40wt%程度の溶解性を示すことがわかった（表2）。このことから、FFM-2はプロトン性極性溶媒に対して良好な溶解性を示すことがわかった。一方で非プロトン性の極性溶媒にはほとんど溶解しないが、例えば水と

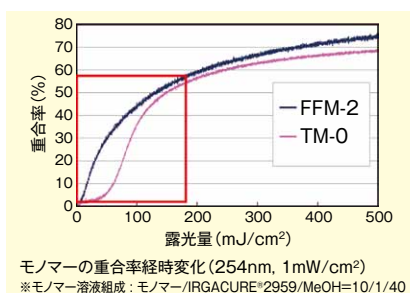


図9. 硬化性の評価

表2. 溶解性の評価

溶媒名	SP 値	質量%濃度	分類
酢酸エチル	9.0	< 0.1%	無極性
メチルエチルケトン	9.3	< 0.5%	極性・非プロトン性
アセトン	10	< 1%	極性・非プロトン性
イソプロパノール	11.5	< 40%	極性・プロトン性
アセトニトリル	11.9	< 1%	極性・非プロトン性
エタノール	12.7	> 50%	極性・プロトン性
メタノール	14.5	> 50%	極性・プロトン性
水	23.4	> 50%	極性・プロトン性

※モノマーのSP値は12.8 ※液温30℃で測定

アセトンを1:1で混合した溶媒には、50%以上の溶解性を示すことを実験により確認しており、この例からもわかるように、混合溶媒次第でFFM-2の溶解性を大きく変えることは可能である。

【安定性の評価】

FFM-2を用い、酸性～アルカリ性条件での安定性を評価した。比較化合物としては、市販の2官能アクリルアミドモノマーであるN,N-メチレンビスアクリルアミド（以降TM-1と呼ぶ）、EOが導入された4官能アクリレートであるEO変性ペンタエリスリトールテトラアクリレート（以降TM-2と呼ぶ）を用いた。評価は、モノマーを強酸性（pH 1.68）、酸性（pH

4.01）、中性（pH 6.86）、アルカリ性（pH 9.18）の緩衝溶液に溶解し、45℃で2週間の経時し、モノマー残存量をHPLCで定量評価した。その結果、FFM-2は、TM-1、TM-2と比較して、強酸性～アルカリ性の各pHにおいて、高い安定性を有することがわかった（図10）。なお、TM-1はホルマリンとアクリルアミドへの分解⁴⁾、TM-2は、エステルの加水分解のパスが進行し、経時で減少したと考えられる。

【安全性の評価】

FFM-2の皮膚刺激性・腐食性試験、皮膚感作性試験、変異原性（Ames）試験を実施した（表3）。

その結果、FFM-2は皮膚刺激性/腐食性が無く、感作性・変異原性も陰

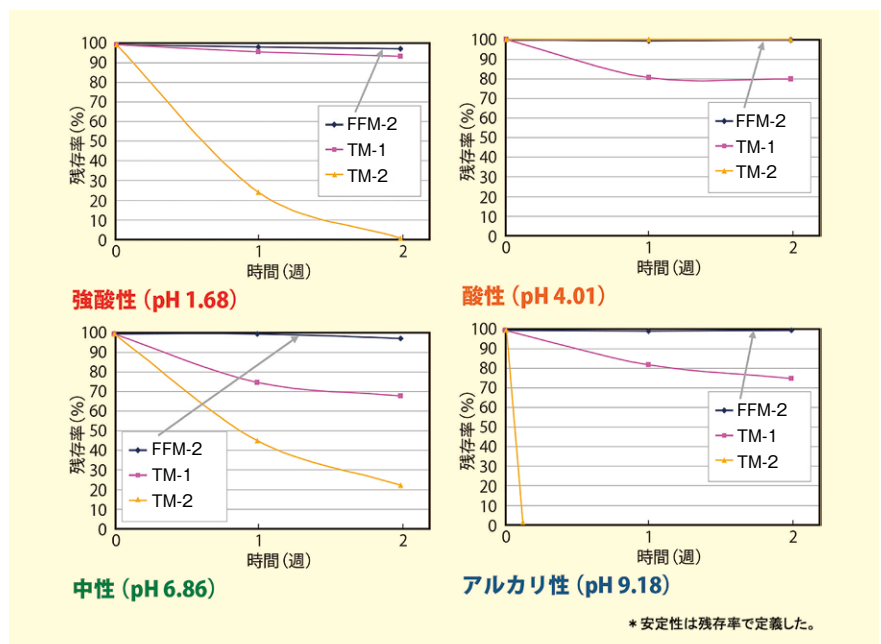


図10. 安定性の評価

表3. 安全性の評価

試験項目	結果
皮膚刺激性・腐食性	PII = 0
	無刺激
皮膚感受性	陰性
変異原性 (Ames)	陰性

性であり、反応性のモノマーとしては稀に見る高い安全性を有することがわかった。先に示したような高い反応性を有するアクリレートモノマーに勝るとも劣らない性能を有しながら、皮膚刺激性/腐食性、感受性・変異原性が全くなく、GHS (Globally Harmonized System) 分類³⁾も区分外というFFM-2のようなモノマーは、世の中で知られていない。

6 その他の化合物情報

【硬化収縮率の測定】

FFM-2の硬化収縮率を測定した。一般的な多官能モノマーとは異なり、FFM-2は固体のため、硬化収縮率をそのまま測定することは難しいため、溶解可能な単官能モノマーで液化して測定することを考えた。測定は、表4に示す割合でFFM-2とN,N-ジメチルアクリルアミド(希釈モノマー)か

表4. 組成物と硬化収縮率

FFM-2 (wt%)	N,N-ジメチルアクリルアミド (wt%)	硬化収縮率 (%)
0.0	100.0	17.6
12.5	87.5	15.5
16.7	83.3	15.1
25.0	75.0	14
33.3	66.7	12.8
x = 100	0	y

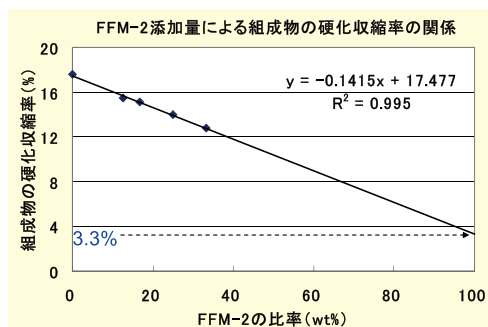


図11. FFM-2の添加量比率と硬化収縮率の関係

ら構成される組成物を用意し、UV露光前後の密度を乾式密度計にて計測し、その数値を用いてFFM-2単独の硬化収縮率を算出する方法で行った。

その結果、FFM-2の添加量と組成物の硬化収縮率には非常に良い相関があることがわかり、表4から作成した関数を用いて算出したFFM-2の硬化収縮率は3.3%となった(図11)。

既存の多官能アクリレートモノマーは一般に10%~20%程度の硬化収縮率を示すのに対し、FFM-2は硬化収縮率が小さいという特徴を有することがわかった。多官能アクリルアミドのFFM-2が、既存の多官能アクリレートモノマーよりも低効果収縮率であった1つの要因として、アクリルアミド基とアクリレート基の官能基違い、すなわち、重合前後の重合性基間距離差が、アクリレート>アクリルアミドとなっているのでは無いかと考えた。具体的には、アクリルアミド基はアミド官能基由来の水素結合性が強く、モノマーの段階からそれぞれの重合性基同士が反発すること無く、互いに近傍に存在していると推測される。一方、アクリレート基は、電子的な反発によりモノマーの状態では、それぞれの重合

性基同士の距離が離れていると推測される。重合すると重合性基同士の距離は縮まるため、その距離差が硬化収縮の大小に関連しているのでは無いかと考察している。上記考察は、同じ骨格でエステル、アミド違いの単官能モノマーである、ヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシエチルアクリルアミドの重合前の密度がアクリルアミドの方が高いことを示している比較データからも支持されている(表5)。

【物性】

FFM-2の物性情報を以下にまとめる(表6)。特筆すべき物性としては、FFM-2は固体であり、モノマー特有の臭いを有さず無臭である。また、一般に、多官能化するに連れ、反応の制御や精製の難易度は格段に上がり、困難を極めるが、FFM-2は、4官能モノマーでありながら、95%以上のHPLC純度を有している点が特徴として挙げられる。

7 期待される効果・性能

FFM-2は、水素結合性の強いアミド基が高密度に複数含有されていることから、極性基(例えば水酸基、アミノ基)を有した基材との密着性を向上

表5. 単官能アクリレート/アクリルアミドモノマーの密度比較

名称	構造	密度 (g/cm ³)
ヒドロキシエチルアクリレート	<chem>C=CC(=O)OCCO</chem>	1.011
ヒドロキシエチルアクリルアミド	<chem>C=CC(=O)NCCO</chem>	1.111

表6. 物性情報

名称		FFM-2
物性	外観	個体
	形態	粉末
	色	白色~淡黄色
	臭い	無臭
	融点	111°C
	純度 (HPLC Area%)	95%以上
	SP値	12.8
Log P _{ow}	1.3	

させる効果が期待できる。更に、硬化収縮率が、既存の多官能アクリレート系モノマーと比較して小さいことも、密着性の向上やフィルム上に塗布した際に問題となるカールの抑制などに寄与すると考えられる。

更に、硬化後、化学的に安定な結合であるアミド基によりネットワークが形成されるため、例えば加水分解などによる劣化も抑えることができ、耐久性の向上も見込まれる。

また、酸素による重合阻害がアクリレートモノマーと比較し少なく、硬化速度が速いことから、露光量の低減（硬化感度の向上）や使用量の削減が期待できる。

最後に、モノマー自身の安全性が高いことから作業安全性向上が期待でき、人体と環境に優しい。

8 想定される用途

FFM-2は、各種材料（フィルム、光学、電子、印刷版、膜等）の架橋剤、コーティング剤として用いられている既存のモノマーとの併用、又は代替が可能と考えられる。しかし、現在用いられている組成物は溶剤系で構成

されているものが主であり、FFM-2をそれら組成物に対して、そのまま使用することは溶解性の点から困難であることが予想される。この問題への対策としては、処方上許容される範囲内で良溶媒であるアルコール系溶剤、水を適量混合することが推奨される。この方法によりFFM-2の溶解性が良化することは、一部の組成において既に確認できている。しかし、処方上、良溶媒の添加がどうしても困難な場合には、相溶性の高い不揮発性の液体の単官能モノマー、例えばヒドロキシ基含有の単官能（メタ）アクリレートや（メタ）アクリルアミドモノマー等に溶かし、擬似的にFFM-2を液体として取り扱う方法も適用できるのでは無いかと考えている。

上記とは別に、FFM-2の特徴である水溶性、安全性を最大限に活かした使用法として、水系硬化性組成物の開発が大いに期待できる。具体的には、水系のインク、塗料、コーティング、接着剤、粘着剤や、親水性ゲル、親水性膜、医療用素材等への架橋剤として好適に使用できるのではないかと期待している。

9 最後に

今回開発した新規水溶性多官能アクリルアミドモノマー（FFM-2）は、既存技術では解決できなかった複数のトレードオフの条件を克服し、人と環境に優しい独創的な材料である。

この新材料は、環境と安全に貢献するにとどまらず、これまでに実現できなかった製品コンセプトをカタチにするチャンスを提供する可能性を持っている。

今後も人々の安全・快適な生活とビジネスの発展を目指して、これら特徴、機能を活かした材料および用途開発を進めていく。

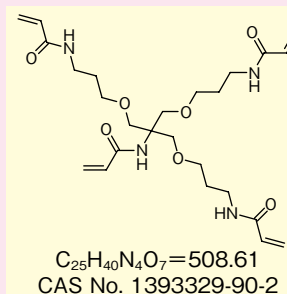
【参考文献】

- 1) 経済産業省 HP <http://www.meti.go.jp/policy/voc/top/>
- 2) スリーボンド社 テクニカルニュース <http://www.threebond.co.jp/ja/technical/technicalnews/pdf/tech40.pdf>
- 3) 環境省 HP <http://www.env.go.jp/chemi/ghs/>
- 4) シーエムシー出版 ケミカルプロファイル http://www.cmcbooks.co.jp/user_data/pdf/cp08053.pdf

Products

水溶性多官能アクリルアミドモノマー・FFM-2

本品は、溶剤系モノマーと同等の高い硬化性、水を溶剤として使用できる水溶性、化合物の安定性、安全性を兼ね備えた新規アクリルアミド系モノマーです。



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
201-20051	N-[Tris(3-acrylamidopropoxymethyl)methyl]acrylamide	有機合成用	5g	8,500
209-20052			25g	25,000

当社ではアゾ重合開始剤の品揃えもごさいます。水溶液重合、乳化重合などの条件検討に最適です。

詳しくは当社 HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/chemical/monomer/index.htm>) をご参照下さい。

はじめに

アルツハイマー病 (AD) は認知症の代表的疾患であり、その神経病理学的特徴は神経細胞脱落に伴う大脳皮質の萎縮に加え、アミロイド β 蛋白質 ($A\beta$) を主成分とした老人斑と過剰リン酸化されたタウ蛋白質を主成分とした神経原線維変化の出現である。これら両病理像は蛋白質が重合して β シート構造が平行に重なったクロス β シート構造、すなわち「アミロイド構造」を形成していることが知られている。現在、 $A\beta$ あるいはタウ蛋白が形成した β シート構造に特異的・選択的に結合し、かつ血液-脳関門透過性を有する低分子化合物が開発され、これらの化合物を陽電子放出核種である C-11 や F-18 で標識した薬剤を AD 患者に投与し、陽電子断層撮影装置 (Positron Emission Tomography; PET) を用いて撮影することにより、これまで死後解剖でしか知り得なかった脳内の病理像 ($A\beta$ 、タウ) の局在を知ることが可能となっている。

著者らは PET プローブの開発過程で様々な化合物を検討してきた。 β シート構造に結合する化合物は平面性を有し、蛍光性の化合物が多く存在する。これまでに、老人斑に比較的高い選択性の高い BF-168¹⁾、神経原線維変化に選択性の高い BF-170²⁾ と呼ばれる化合物を開発している。本稿では、放射線を用いずに基礎研究で利用できる特徴的な染色性・蛍光特性を示す化合物 BF-187、BF-188 を紹介したい (図 1)。

BF-187 と BF-188 の特徴

BF-187、BF-188 は前述した BF-168、BF-170 と同様、 $A\beta$ あるいはタウ蛋白質が形成している β シート構造を認識する化合物である。パラフィン包埋 AD 患者脳切片を用いてこれらの化合物で染色を行うと、BF-168

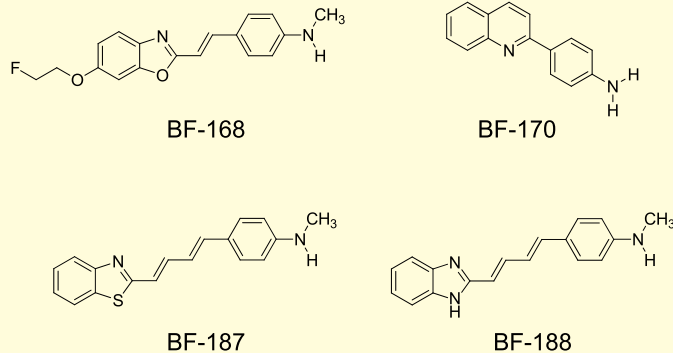


図 1. 各化合物の化学構造式

は老人斑を、BF-170 は神経原線維変化を比較的选择的に染色するのに対し、BF-187、BF-188 は両病理像を明瞭に染色する特徴を有している (図 2)。しかし、特に BF-188 は著者らが使用している一般的な蛍光顕微鏡 (Nikon エクリプス 80i) の BV-2A フィルター (励起波長: 400-440 nm, 蛍光波長: 470 nm ~) で観察すると、老人斑 ($A\beta$) は緑色に、神経原線維変

化 (タウ蛋白質) は黄色からオレンジ色に観察することができる。さらに、UV-1A フィルター (励起波長: 360-370 nm, 蛍光波長: 400 nm ~) あるいは V-2A フィルター (励起波長: 380-420 nm, 蛍光波長: 450 nm ~) で観察すると、老人斑のみが選択的に青から青緑色に観察され、一方で B-2A フィルター (励起波長: 450-490 nm, 蛍光波長: 520 nm ~) あるいは

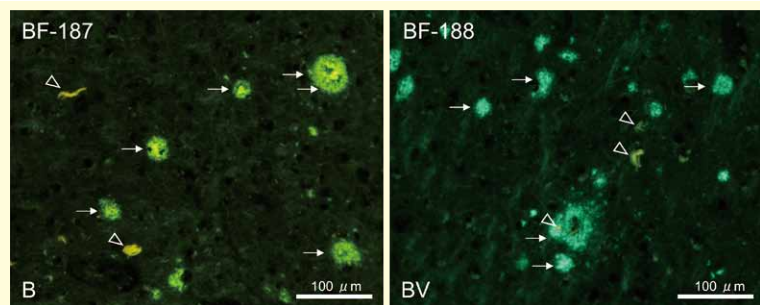


図 2. AD 患者脳切片 (前頭葉) における BF-187 (左) と BF-188 (右) の染色像
矢印: 老人斑 ($A\beta$)、矢じり: 神経原線維変化 (タウ)

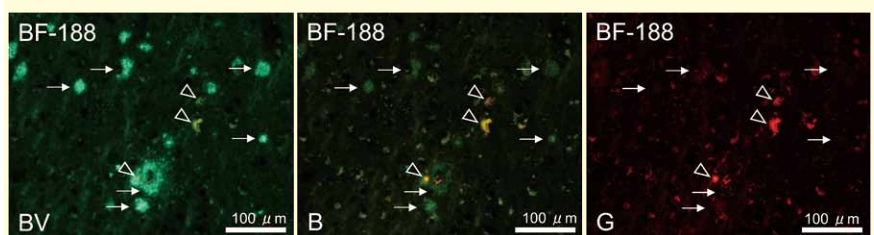


図 3. AD 患者脳切片における BF-188 の波長依存的な染色像

矢印: 老人斑 ($A\beta$)、矢じり: 神経原線維変化 (タウ)

左から、BV-2A フィルター、B-2A フィルター、G-2A フィルターの画像

BV-2A フィルターでは老人斑、神経原線維変化が描出されているのに対し、G-2A フィルターでは神経原線維変化が選択的に描出されている。

G-2A フィルター（励起波長：510-560 nm, 蛍光波長：590 nm～）で観察すると、神経原線維変化のみが選択的にオレンジ色から赤色に観察することができる性質を有している（図3）、すなわち「波長選択性」を有している³⁾。タウの病理像は神経原線維変化の他に、Neuropil threads、Neuritic plaquesの変性突起（A β の周りに局在するタウ病変）などがある。BF-188は老人斑の中に含まれているタウ病変を色で明瞭に区別することが可能である（図3）。BF-187もBV-2AおよびB-2Aフィルターを用いることにより両病理像を明瞭に観察することが可能であるが、BF-188ほどの波長選択的な性質は有していない。

さらに、マルチスペクトル CCD カメラ Nuance[®] (Perkin Elmer) を用いて BF-188 で染色した AD 患者脳切片を BV-2A で観察した画像を撮影すると、老人斑由来の蛍光スペクトルと神経原線維変化由来の蛍光スペクトルは大きく異なっていることがわかる（図4）。そのため、スペクトルイメージングを行うことにより、自家蛍光を取り除くことができるとともに老人斑由来のシグナルと神経原線維変化由来のシグナルを分離することができ、高

い S/N 比で一度に両病理像を個別に評価することも可能である（図4）。このことは、AD 患者脳を BF-188 で染色するだけで、老人斑と神経原線維変化という二つの病理像を個別に定量的に評価できることを意味している。さらに、近赤外光領域の色素（Cy5.5, Cy7 など）を二次抗体などに用いれば、A β ・タウ病変は BF-188 で、興味がある蛋白質は抗体を用いた免疫染色を行うことで多重染色も可能である。

前述したように、これらの低分子化合物は病理像の蛋白質が形成した「 β シート構造を認識」しており、一般的に抗体が認識するアミノ酸配列、すなわち「エピトープを認識」することとは異なる。特に、タウ病変に関しては Pretangle、Intracellular tangle、extracellular tangle (Ghost tangle) といくつかの種類 of 神経原線維変化が存在し、その種類によって重合している構造、露出しているエピトープなどが異なる。このことは、 β シート化合物と抗体を用いた免疫染色が一致しない部分があることを意味している。例えば、AT8 と呼ばれるタウ蛋白質のリン酸化抗体（エピトープ：pSer202/Thr205）は Ghost tangle を

あまり染色しないが、これらの化合物では明瞭に Ghost tangle を染色する。その一方で、AT8 で染色される重合した線維を含まない Pretangle はこれらの化合物では染色されない。このように、抗体、低分子化合物で認識する様式が異なるため、100%一致しないことを理解しておくことは実験結果を解釈する上で重要であると思われる。

では、なぜ BF-188 は老人斑、神経原線維変化に結合した際に異なる蛍光特性を示すのか？ 両病理像の主成分である A β 、タウ蛋白質は共通して β シート構造を有していることは前述した通りである。この二つの違いは何なのか？ 神経原線維変化に含まれるタウ蛋白質の特徴として過剰リン酸化が挙げられる。アルカリフォスファターゼで脱リン酸化処理後 BF-188 の染色性を検討したところ、違いは認められなかったことからリン酸基の影響はほとんどないと考えられる。これらのことから、A β 、タウ蛋白質は共通した β シート構造を有しているが、その構造は微妙に異なっており、低分子化合物との相互作用は異なっているものと考えられる。それを改めて証明しているのが、近年臨床での生体画像化が実現されたタウ選択的な PET プ

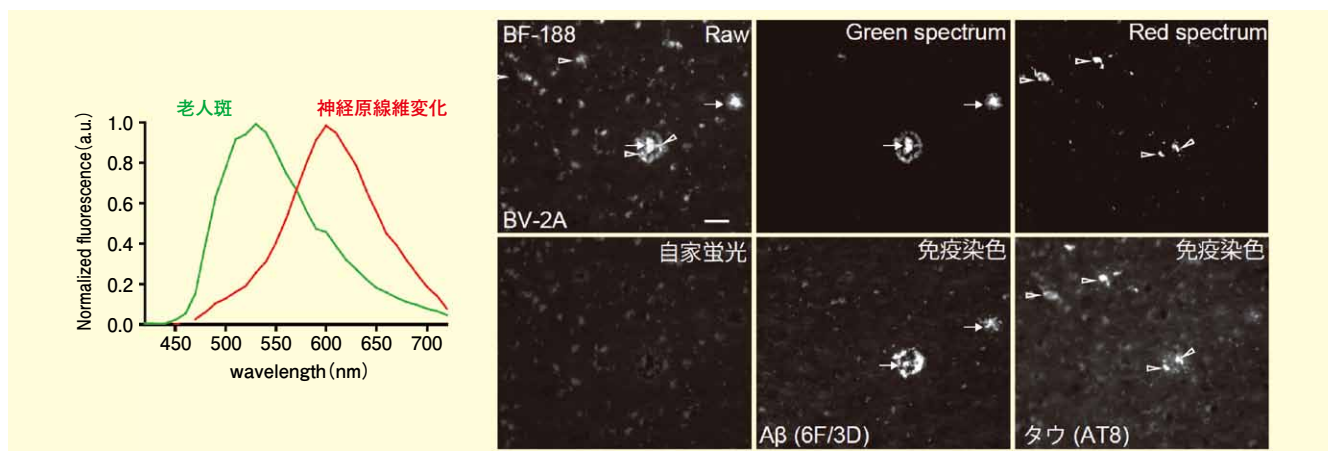


図4. AD 患者脳切片における BF-188 のマルチスペクトルイメージング

矢印：老人斑 (A β)、矢じり：神経原線維変化 (タウ)

左グラフ：スペクトルイメージングにより得られた老人斑と神経原線維変化の蛍光スペクトル。写真：左からスペクトルイメージング画像 (Raw)、緑色のスペクトルで描出した画像 (Green spectrum)、赤色のスペクトルで描出した画像 (Red spectrum) それぞれの画像が A β 、タウの免疫染色と一致している。スケールバー：50 μ m

ローブである^{4,5)}。これらも β シート構造を認識する低分子化合物だが、A β 、タウ蛋白質への結合親和性は異なり、タウ病変に選択的に結合する性質を有している^{5,6)}。

BF-187、BF-188 の染色手順および観察方法

基本的には、BF-168、BF-170 の染色手順と同様である。

- ①パラフィン脳切片に対して脱パラフィン処理を行う。
- ②BF-187、BF-188 を 200 μ M になるように 100% エタノールで溶解。
- ③純水にて希釈を行い、100 μ M に化合物溶液を調製。
- ④化合物溶液を切片に滴下。
- ⑤10 分間反応させた後、PBS で洗浄。
- ⑥蛍光褪色防止剤を用いて封入する。
- ⑦蛍光顕微鏡で観察し、写真を撮影する。

*免疫染色との多重染色の場合は、必要に応じてオートクレーブなどの抗原賦活化処理を行い、免疫染色を行った後に化合物染色を行うことで、多重染色が可能である。ただし、蟻酸処理を行うと化合物が認識する β シート構造が破壊されてしまうため、化合物での染色が失われてしまう。多重染色の場合は、上記

の点に注意が必要である。化合物染色を行った後に、免疫染色を行うことは可能であるが、化合物の染色のコントラストが低下する可能性があるため、著者らは最初の手順で行っている。また、必要に応じて自家蛍光消光処理（リポフスチン処理）を行うことでバックグランドである自家蛍光を軽減させることが可能である。

BF-187 と BF-188 の応用

また、BF-187、BF-188 は BF-168、BF-170 同様に高い血液・脳関門透過性を有している。したがって、蛍光化合物である BF-187、BF-188 は前臨床研究の二光子励起顕微鏡を用いた In vivo イメージングへの利用が可能である。しかし、トランスジェニックマウスなどのモデル動物などでの検討は行っていないので、マウスにおける老人斑、神経原線維変化に対して結合性、波長選択性を示すのかは不明である。

おわりに

化合物を用いた蛍光染色は免疫染色と比較して簡便に行うことができる。本化合物、特に BF-188 を使用するこ

とにより老人斑と神経原線維変化を一度にかつそれぞれを「色」で選択的に捉えることができる。モデル動物を用いた前臨床研究への応用は、リアルタイムに A β およびタウ蛋白質のタイムコースおよびそれらの相互作用を理解する上で極めて有効なツールになると期待している。

【参考文献】

- 1) Okamura, N. *et al.* : "Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain.", *J. Neurosci.*, **24**, 2535-2541 (2004).
- 2) Okamura, N. *et al.* : "Quinoline and benzimidazole derivatives : candidate probes for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease.", *J. Neurosci.*, **25**, 10857-10862 (2005).
- 3) Harada, R. *et al.* : "Use of a benzimidazole derivative BF-188 in fluorescence multi-spectral imaging for selective visualization of tau protein fibrils in the Alzheimer's disease brain.", *Mol. Imaging Biol.*, **16**, 19-27 (2014).
- 4) Okamura, N. *et al.* : "Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using 18F-THK5105 PET.", *Brain*, **137**, 1762-1771 (2014).
- 5) Okamura, N. *et al.* : "Tau PET imaging in Alzheimer's disease.", *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, **14**, 500 (2014).
- 6) Harada, R. *et al.* : "Comparison of the binding characteristics of [18F]THK-523 and other amyloid imaging tracers to Alzheimer's disease pathology.", *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **40** (2013).

Products

Wako

アルツハイマー病：老人斑・神経原線維変化特異的蛍光プローブ

BF-168、BF-170、BF-187、BF-188

BF-168 は、老人斑を、BF-170 は、神経原線維変化を蛍光で検出できます。

BF-187、BF-188 は、老人斑、神経原線維変化の両病理像を明瞭に検出する特長を有しています。さらに BF-188 は、観察するフィルターを変更することで、老人斑を青から緑色、神経原線維変化をオレンジ色から赤色で観察することが可能な波長選択性を有しています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-16361	BF-168	□°	細胞生物学用 1mg	15,000
026-16371	BF-170	□°	細胞生物学用 1mg	15,000
NEW 022-18811	BF-187	□°	細胞生物学用 1mg	25,000
NEW 025-18801	BF-188	□°	細胞生物学用 1mg	30,000

□°…2 ~ 10°C 保存 □°…20°C 保存 □°…80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

創薬スクリーニングに有用な高感度かつ低コストの糖転移酵素およびキナーゼのアッセイ系の開発

神戸大学 大学院工学研究科・東京大学 創薬オープンイノベーションセンター 熊谷 和夫
 東京大学 創薬オープンイノベーションセンター 小島 宏建、岡部 隆義、長野 哲雄

はじめに

生体中の酵素は創薬における非常に重要な薬物標的である。例えばキナーゼの選択的阻害剤はいわゆる分子標的薬としてがんの治療薬として用いられている。スタチンと総称される HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA) 還元酵素阻害剤は高コレステロール血症の治療薬として用いられている。糖尿病の治療では DPP4 (dipeptidyl peptidase-4) 阻害剤が用いられている。このように、酵素阻害剤は様々な疾患で治療薬として開発が行われている。酵素を標的とする創薬を行うには、一般に、酵素アッセイによるスクリーニングを行って、創薬リードとなる化合物をまず取得する必要がある。そのためには使いやすく高感度のアッセイ系が必要であるが、それに加えて、アッセイコストが低くなければスクリーニングには不向きである。特に、多数の化合物をアッセイするハイ・スループット・スクリーニング (HTS) では、扱う化合物の数が膨大であるため、1 化合物当たりのアッセイコストを低く抑えることが重要となる。従来、多くの酵素アッセイ法が開発され、アッセイキットも種々市販されているが、高感度かつアッセイコストが安く、しかも多くの標的酵素に適用できるといった汎用性を持ったアッセイ法はほとんどない。近年、東京大学に 21 万種類を超える化合物を集めた公的大型化合物ライブラリーが整備され、アカデミア・企業を問わず HTS に利用できるようになったが¹⁾、アッセイコストがネックとなって、大量スクリーニングの実施が困難となる場合があった。筆者らは、このような課題の克服を目指して、低コストでしかも汎用性を持った新しい酵素アッセイ法の開発に取り組んだ。その結果、糖転移酵素やキナーゼを対象に、全ての分子種を高感度で安くかつ簡便に

アッセイできるアッセイ法を開発した。本稿では、筆者らの開発した、ヌクレオチドの高感度蛍光定量に基づく糖転移酵素とキナーゼの新規蛍光アッセイ法を紹介する。

従来の糖転移酵素及びキナーゼのアッセイ

まず、従来用いられてきたアッセイ法を概説する。糖転移酵素は生体中でタンパク質や脂質などの基質分子に糖鎖修飾を行う酵素であり、ヒトでは 9 タイプ 200 種類以上の分子種が知られている。これまで糖転移酵素については HTS に適した簡便なアッセイ系はほとんど開発されてこなかった。生成物である糖化合物のハイ・スループットな定量法がなかったことが大きい。糖転移酵素反応では、糖ドナー基質である糖ヌクレオチドから糖アクセプター分子へ糖が転移することで、ヌクレオチドが遊離生成する。よって、このヌクレオチドの生成を指標とすることによっても糖転移酵素の活性を測定することができる。しかしながら、これまで開発されたヌクレオチドの定量法は主に、酵素カップリングを用いて NADH の生成として吸光度で測定する方法²³⁾、リン酸を遊離させ無機リン酸として比色定量する方法⁴⁾などに限られ、検出感度に乏しいものがほとんどである。最近、GDP、UDP、CMP を抗体を用いて蛍光偏光法で定量するキットが市販されたが、アッセイコストが高い。

一方、キナーゼのアッセイでは、各種のアッセイ方法が開発され、HTS にも利用されている。キナーゼのアッセイ方法は 2 種類に大別され、1 つはリン酸化された生成物 (例えばリン酸化されたペプチド) を抗体を用いて結合アッセイ等で定量する方法である。もう 1 つは、基質の ATP から生じた ADP を定量する方法 (もしくは ATP の消費を定量する方法) である。どちらも HTS で用いられるが、ADP の

生成を定量する方法の利点は、ヒトで 500 種類以上も存在するキナーゼの分子種の何れに対しても、同じ手法でアッセイができること、即ち汎用性が高いことである。これまで ADP を定量する手法としては、ADP に対する抗体を用いて結合アッセイで定量する方法、酵素カップリングにより ATP に再変換してルシフェラーゼによる化学発光として定量する方法がよく用いられ、両方法ともアッセイキットとして市販されている。しかしながら、これらキットを用いる方法では、マイクロプレート 1 枚のアッセイに数万円を要するので、コスト面の負担が大きかった。

酵素カップリングによるヌクレオチドの新規高感度蛍光検出法の確立

上記のような課題に対処するため筆者らがとった方法は、酵素カップリングを利用した新しいヌクレオチドの定量法の開発である。ヌクレオチドを定量対象とすることで汎用性を、酵素カップリングを用いることで低コストを、蛍光検出を用いることで高感度を実現した⁵⁾。図 1 に糖転移酵素におけるアッセイの反応原理を示す。ヒトの糖転移酵素の場合、糖転移酵素反応で生成するヌクレオチドは GDP、UDP、CMP のいずれかである。これらはヌクレオチド二リン酸キナーゼ (NDP キナーゼ) 或いはヌクレオチド一リン酸キナーゼ (NMP キナーゼ) の存在下に過剰量の ATP を作用させることで、定量的に ADP を生成させることができる。ADP は、ADP 依存性ヘキソキナーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、ジアホラーゼを用いた酵素カップリングを行うことで、定量的にレゾルフィンの高感度蛍光に誘導できる。従って、糖転移酵素の活性をレゾルフィンの蛍光測定で定量できるようになった。一方、キナーゼアッセイの場合は生成物が ADP であるの

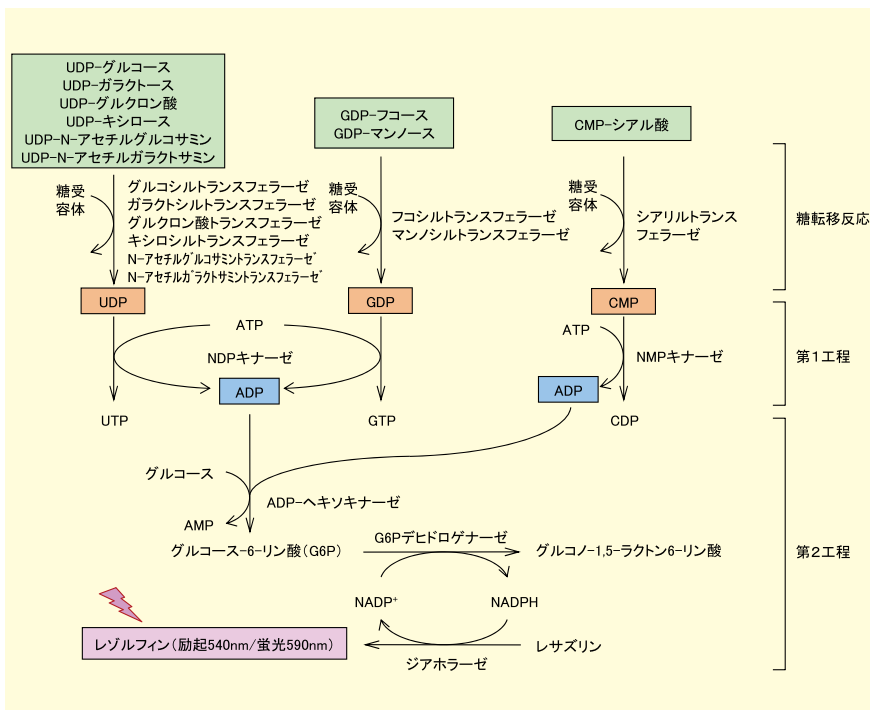


図1. 酵素カップリングを利用した新規なヌクレオチド定量法に基づく糖転移酵素の蛍光アッセイ法の原理

ヒトの糖転移酵素は9種類の糖ヌクレオチド(図中、緑色四角内)のいずれかを糖ドナー分子として、糖アクセター分子に糖を転移する。その結果、UDP、GDP、CMPのいずれかのヌクレオチドが生成する。これらの遊離ヌクレオチドは、NDPキナーゼ或いはNMPキナーゼを使って過剰量のATPとともに作用させることで、定量的にADPを産生させることができる(第1工程)。生成したADPは、ADP-ヘキソキナーゼ、G6Pデヒドロゲナーゼ、ジアホラーゼを用いた酵素カップリングにより、レゾルフィンの蛍光へと定量的に導くことができる(第2工程)。ADP定量のための第2工程は、キナーゼのアッセイ法としても用いることができる。第1工程における添加試薬組成: UDPまたはGDP定量の場合: 200 μM ATP、2 U/ml NDPキナーゼ、100 mM Tris-HCl (pH 7.5)、10 mM MgCl₂; CMP定量の場合: 200 μM ATP、3 μg/ml NMPキナーゼ、4 mM DTT、100 mM Tris-HCl (pH 9)、13.5 mM MgCl₂、150 mM KCl。第2工程における添加試薬組成: 2 mM グルコース、2 U/ml ADP-ヘキソキナーゼ、2 U/ml G6Pデヒドロゲナーゼ、2 U/ml ジアホラーゼ、200 μM NADP、100 μM レサズリン、100 mM Tris-HCl (pH 7.5)、10 mM MgCl₂、20 mM N-エチルマレイミド(定量しようとする液中にDTTを含む場合)。各試薬は安定性を高めるため牛血清アルブミンと界面活性剤を添加して用いる。

で、上記のスキームの中のADP定量のスキームを用いればよい。こうして、全ての糖転移酵素とキナーゼを蛍光アッセイで測定できるようになった。図2に本方法を用いて測定したヌクレオチドの検量線の一例を示す。384穴マイクロプレートを用いたアッセイで、5 μlという微量サンプル量でもZ'-factor値0.8以上の高精度で、数十nMの低濃度から数十μMまで3桁の濃度域で直線性が得られた。また、酵素カップリング反応の操作自体は、糖転移酵素アッセイの場合は試薬

添加操作が2回、キナーゼアッセイの場合は試薬添加操作が1回のみと非常に簡単であり、アッセイ時間もそれぞれ2時間、1時間という短さである。また、本定量法は、酵素アッセイでよく用いられる緩衝液組成や添加物、ATPの影響をほとんど受けないのも利点である(後述)。必要試薬を購入して自家調製した場合、本方法のアッセイコストは、384穴プレートの場合、1ウェル当たり数円以下であり、従来法と比べはるかに安価にアッセイを実施できる。

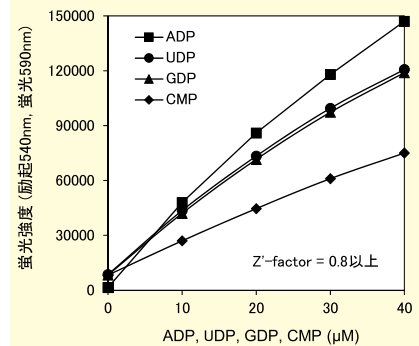


図2. ADP、UDP、GDP、CMPの本方法による検量線

少容量384穴マイクロプレートに5 μlの各ヌクレオチド液を添加し、本方法を用いて検量線測定を行った。データは2連測定の平均値で示した。

糖転移酵素アッセイへの応用

前述したように糖転移酵素反応ではGDP、UDP、CMPのいずれかが生成するので、これらのヌクレオチドを定量することで糖転移酵素のアッセイが可能である。しかも我々の方法は、当初からマイクロプレートを用いたアッセイを想定しており、測定試薬を添加するだけの簡単な操作でアッセイが終了する便利な方法である。一例として、ヒトガラクトシルトランスフェラーゼhB4GALT1に対する阻害剤探索を本方法を用いて行った結果を図3に示す。市販生理活性物質化合物ライブラリー1280化合物を384穴プレートを使って終濃度10 μMでスクリーニングした。測定は2回行いその平均値で阻害率を求めた(図3A)。また、本アッセイ法自体への化合物の影響を測定するため、20 μM濃度のUDPを定量するカウンターアッセイを並行して同様に実施した(図3B、通常のスクリーニングではカウンターアッセイはヒットした化合物についてのみ行えば良いが、ここでは検証のため全化合物についてアッセイした)。前者の阻害率から後者の阻害率を差し引いた値を、hB4GALT1に対する正味の阻

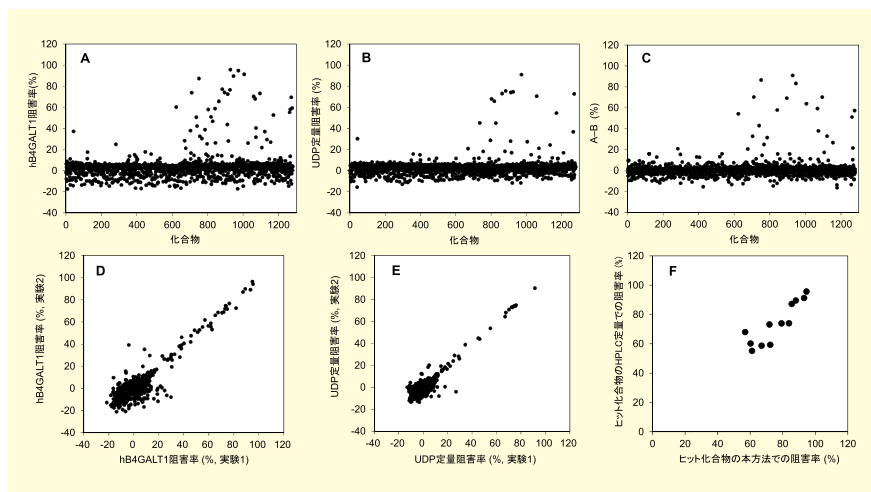


図3. 1280化合物から成る市販生理活性物質化合物ライブラリー (LOPAC) を対象としたヒトガラクトシルトランスフェラーゼ hB4GALT1 に対する阻害剤スクリーニングの結果

(A) 384穴プレートを用いて5 mM N-アセチルグルコサミンと50 μ M UDP-ガラクトースを基質として、10 μ Mのライブラリー化合物存在下、37°Cで1時間、hB4GALT1反応を行った。これに、100 μ M ATPと1 U/ml NDPキナーゼを加え、室温で1時間インキュベートした後、前述のADP検出試薬(第2工程試薬)を加え、室温で1時間放置後、プレートリーダーで蛍光(励起波長540 nm、蛍光波長590 nm)を測定した。アッセイは2回実施しその平均値で化合物の阻害率を求めた。(B) hB4GALT1反応の代わりに384穴プレートに20 μ M UDPを分注し、本方法によるUDP定量を行って本アッセイ法に対するライブラリー化合物の阻害作用を測定した。測定は同様に2回行った。(C) Aで求めたhB4GALT1に対する阻害率からBで求めたアッセイ系自体に対する阻害率を差し引き、hB4GALT1に対する正味の阻害率とした。正味阻害率50%以上を示した12化合物をヒットとした。(D) 2回アッセイしたhB4GALT1に対する化合物の阻害活性の測定結果の相関図。対角線上にプロットが並んでいることから、ばらつきの少ない結果が得られていることが分かる(Z' -factor = 0.80~0.81)。(E) 2回アッセイしたUDP定量に対する阻害活性の測定結果の相関図。Dに比べさらにばらつきの少ないアッセイができていて(Z' -factor = 0.85~0.86)。(F) 12個のヒット化合物について、HPLCを用いたUDP定量によるhB4GALT1阻害アッセイを行い、本蛍光アッセイ法の結果との相関性を調べた。両測定結果はほぼ一致していることが分かる。

害率と定義した(図3C)。その結果、12化合物が10 μ Mで正味阻害率50%以上を示すことが分かり、hB4GALT1に対する阻害ヒットとして特定することができた。2回の実験間の測定値は、どの測定でもよい一致を示した(図3D、E)。さらに、ヒット化合物の活性を検証するため、HPLCを用いて生成UDPを定量する比較アッセイを実施したところ、HPLCにより定量した阻害活性と本方法で定量した阻害活性はほぼ一致した(図3F)。従って、本方法での糖転移酵素の活性測定結果は妥当なものであり、糖転移酵素阻害剤探索に利用すると結論できた⁵⁾。

ところで、GDP、UDPの変換に用

いるNDPキナーゼと、CMPの変換に用いるNMPキナーゼとは性質が大きく異なる点がある。前者はDTT要求性がないのに対し、後者はmMレベルの還元剤(DTT等)が必要である点である。本蛍光アッセイ系では、最終段階でレサズリンからレゾルフィンへの還元反応を用いているため、DTTが存在すると酵素反応に関係なく自動還元が徐々に進んでしまい、蛍光バックグラウンドが高くなる。そこで、DTTを含む反応液中のヌクレオチドを定量する場合は、図1の第2工程においてSH試薬であるN-エチルマレイミド(NEM)を存在させ、DTTを不活性化させることにした。幸い、10 mMのNEMを存在させて

もADPの蛍光定量に悪影響を及ぼすことはなく、DTTの作用のみを打ち消すことができた。こうして、CMPを生成する糖転移酵素であるシアリルトランスフェラーゼの場合も、高シグナル/バックグラウンド比でアッセイが可能となった。

シアリルトランスフェラーゼ以外の糖転移酵素は、GDP、UDPの生成に基づく定量にNDPキナーゼを用いるので、DTTを使用する必要がない。この場合は、糖転移反応と酵素カップリング反応を同時に行わせることが可能で(即ち図1の糖転移反応から第2工程までを同時に行わせることが可能)、糖転移酵素活性を連続的にモニターするコンティニュアス・アッセイが可能である。

キナーゼアッセイへの応用

上述したように、本方法の後半(第2工程)はADPの定量反応であるので、そのままキナーゼアッセイに用いることができる。また、第1工程はキナーゼ反応そのものである(図4)、NDPキナーゼ、NMPキナーゼと同様に、DTT要求性、非要求性のいずれのキナーゼに対してもアッセイが可能である。DTT非要求性のキナーゼであればコンティニュアス・アッセイが可能なのも糖転移酵素の場合と同様である。また、本アッセイはキナーゼのアッセイで用いられる多くの添加物による影響を受けないことも確認された(表1)。このアッセイ法は、我々が調べた範囲で、これまで市販のキナーゼアッセイキットよりも精度(Z' -factor)が良く、また大幅に低コストが達成できた。我々は既に幾つかのプロテインキナーゼを標的に本方法を用いてHTSを実施しており、それぞれの標的で選択的なヒット化合物が得られている(論文投稿準備中)。また、本方法自体を阻害する化合物は多くないことを、東京大学創薬オーブ

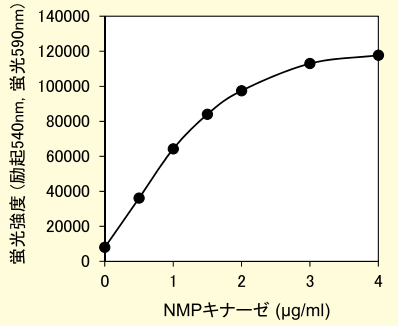


図4. キナーゼアッセイの一例
CMPを基質としてNMPキナーゼの活性を本アッセイ法で測定した。

インノベーションセンターの全ライブラリー化合物をアッセイして確認している。従って、本方法はキナーゼのアッセイ法としても非常に有用であり、使いやすい方法と言える。本方法はキナーゼに限らず、ATPアーゼ、アセチル-CoAカルボキシラーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼなどADPを産生する酵素全般のアッセイにも適用できるので、応用範囲は広い。

おわりに

以上述べたように、酵素カップリン

表1. 本アッセイ法における添加物の影響^{a)}

添加物	無影響濃度 ^{b)}
NaCl	400 mM
CaCl ₂	20 mM
MgCl ₂	100 mM
MnCl ₂	20 mM
Dimethyl sulfoxide	10%
Triton X-100	0.4%
Tween 20	0.4%
EDTA	15 mM
Na ₃ VO ₄	1 mM
NaF	20 mM
DTT	6 mM

^{a)} 40 mM Tris-HCl (pH7.5), 20 mM MgCl₂, 0.1 mg/ml BSA 溶液中において、10 µM ADPを定量

^{b)} 本方法による蛍光値への影響が5%以下 (和光純薬工業 提供データ)

グを用いたスクレオチドの新しい蛍光定量法を確立することで、スクリーニングに必要な高感度、高精度、低コスト、簡便性の全てを満足する酵素アッセイ法を構築できた。これにより、標的酵素と基質さえ用意できれば、必要試薬を購入して自家調製した場合、20万化合物を対象としたHTSであっても、数十万円の試薬コストで実施できるようになった。アッセイキット化すれば、利便性はさらに向上すると予想される。糖転移酵素やキナーゼに対す

るHTSが容易になったことで、今後これらの領域で、未開拓の酵素分子種を標的とした創薬研究が一層活発になることが期待される。

【参考文献】

- 1) 東京大学創薬オープンイノベーションセンター web サイト <http://www.ocdd.u-tokyo.ac.jp/>
- 2) Mulder, G. J. et al.: *Biochem. J.*, **151**, 131-140 (1975).
- 3) Gosselin, S. et al.: *Anal. Biochem.*, **220**, 92-97 (1994).
- 4) Wu, Z. L. et al.: *Glycobiology*, **21**, 727-733 (2011).
- 5) Kumagai, K. et al.: *Anal. Biochem.*, **447**, 146-155 (2014).



Z'-factor

スクリーニングにおけるアッセイ系の最適度を表す指標。Z'-factor=1-(3×SD_H+3×SD_L)/(A_{VH}-A_{VL})で計算される(SD_HとSD_Lはhigh control群とlow control群の各標準偏差を、A_{VH}とA_{VL}はhigh control群とlow control群の各平均値を表す)。1に近い値となるほど感度が良く、ばらつきの少ないアッセイ系であると言える。再現性の良いHTSを行うには通常、0.5以上の値が必要。

HTSキナーゼ活性アッセイキット



フルオロスパーク™ キナーゼ/ADP マルチアッセイキット

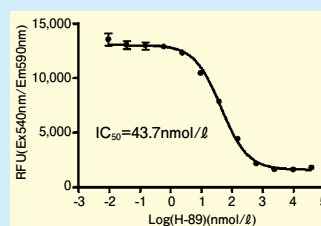
本キットは、酵素カップリング蛍光法によるキナーゼ活性のハイスループットスクリーニング (HTS) に適したアッセイキットです。キナーゼ活性によって生成されたADP量を簡便な操作で高精度に測定できます。

キット構成

	1,000回用	10,000回用
● 基質液	9ml	90ml
● 酵素液	500 µl	5ml
● 色素液	100 µl	1ml
● 還元剤ブロッカー	400 µl	4ml
● 反応停止液	10ml	100ml
● 10mmol/l ATP溶液	100 µl	1ml
● 10mmol/l ADP溶液	100 µl	1ml

データ

■ プロテインキナーゼAに対するH-89によるIC₅₀測定



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 291-77401	Fluorospark™ Kinase/ADP Multi-Assay Kit	酵素活性測定用	1,000回用	65,000
NEW 297-77403			10,000回用	照会

蛍光標識未分化マーカーレクチン rBC2LCN 【AiLecS1】 ～未分化ヒト万能性幹細胞を生きのまま検出する～

和光純薬工業株式会社 ライフサイエンス研究所 新井 華子

はじめに

近年、幹細胞研究分野は目覚ましい発展を遂げ、ヒト万能性幹細胞（ES細胞及びiPS細胞）を用いた再生医療に大きな期待がよせられている。iPS細胞をさまざまな細胞に分化させ、治療や創薬に用いる研究が世界中で進められている。わが国では昨年、世界で初めてiPS細胞を使用した臨床研究が行われ、iPS細胞を利用した再生医療が実現に向けて大きく動き出した。iPS細胞を利用した再生医療を一般に広めるためには、iPS細胞の未分化状態を維持し、安定して培養を行い、目的の細胞に確実に分化させ移植する必要がある。また、移植細胞の中に腫瘍化の可能性のある未分化なiPS細胞が残存しないことが重要とされている。そのため、未分化なiPS細胞を高感度で検出できるマーカーが望まれていた。これまで、iPS細胞の未分化状態を判別する方法として、未分化マーカーに対する抗体を用いた染色法があったが、細胞を染色するためにiPS細胞の固定が必要な場合や、生細胞染色ができても感度面で不十分なものが多かった。今回、当社では、高感度で簡便に未分化なヒト万能性幹細胞を検出する蛍光標識マーカーを上市したため紹介する。

rBC2LCN 【AiLecS1】によるライブセルイメージング

rBC2LCN 【AiLecS1】は、未分化なヒト万能性幹細胞の細胞膜上糖鎖の1つであるO型糖鎖Hタイプ3 (Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc) に結合するレクチンとして同定されたりコンビナントタンパク質である^{1,2,3)}。rBC2LCN-FITC、rBC2LCN-635、rBC2LCN-547は、それぞれFITC、Cy5、Cy3領域蛍光色素で蛍光標識した製品（rBC2LCN-547は近日発売予定）で、細胞毒性をほとんど示さないため、細胞を生きのまま染色できる安全性の高いマーカーである。また、培養液中に添加するだけで使用できるため非常に簡単に、生きた

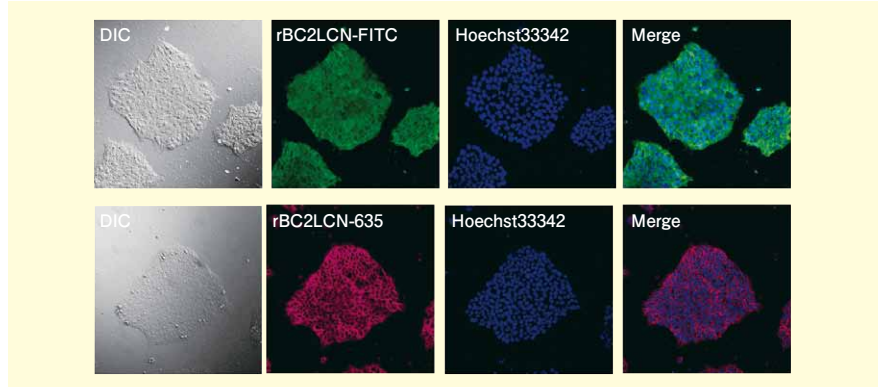


図1. rBC2LCN-FITC、rBC2LCN-635を用いたヒトiPS細胞の生細胞染色
ヒトiPS細胞（201B7株）の培養液に各蛍光標識rBC2LCNを添加し、2時間後に撮影（使用濃度：1/1,000）

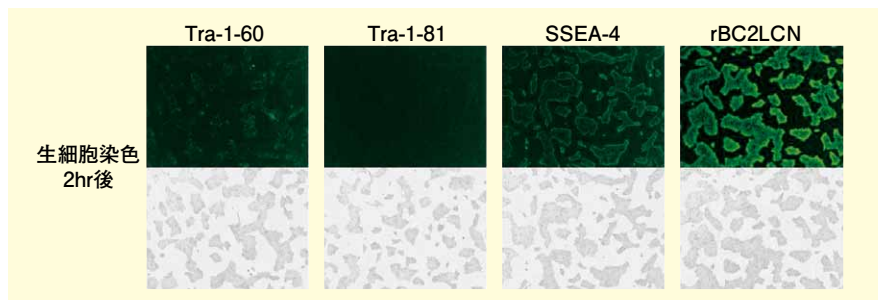


図2. rBC2LCN-FITCを用いたヒトiPS細胞の生細胞染色
ヒトiPS細胞（201B7株）の培養液にFITCで標識した各抗体及びrBC2LCNを添加し、2時間後に撮影（使用濃度：1/100）

ヒトiPS細胞の良好な染色像を得ることができる（図1）。これら蛍光標識rBC2LCNによる染色は培養液を交換しても数日間持続し、培養液交換のたびに蛍光標識rBC2LCNを添加することにより長期間観察できることから、ヒトiPS細胞樹立時の観察やヒトES/iPS細胞の品質管理への利用が期待できる。結合性や特異性について従来広く使用されてきたヒトES/iPS細胞表面マーカーである抗Tra-1-60/81抗体、抗SSEA-4抗体と比較し

たところ同等以上であった（図2）。抗体による染色と比較して蛍光標識rBC2LCNは、添加後、速やかに細胞と結合することや、培養液に添加し観察を続けることが可能であることから非常に使用しやすい。また、固定細胞ではより鮮明な染色画像の取得が可能で、他の抗体との多重染色も可能であった（図3）。

フローサイトメトリーへの適用

蛍光標識rBC2LCNはフローサイトメトリーへの適用も可能である。蛍光

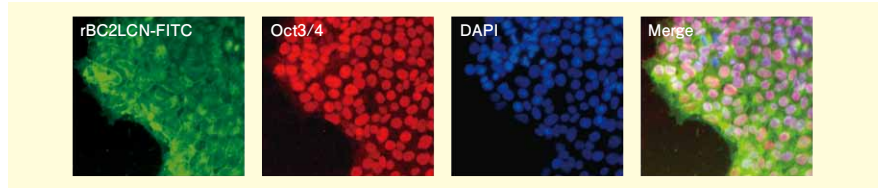


図3. rBC2LCN-FITCを用いた固定ヒトiPS細胞の染色
4%パラホルムアルデヒドで固定したヒトiPS細胞（201B7株）を抗Oct3/4抗体及びrBC2LCNで染色した（使用濃度：1/1,000）

標識 rBC2LCN を用いてヒト iPS 細胞及びヒト正常二倍体線維芽細胞を染色し、フローサイトメトリーに供したところ、未分化であるヒト iPS 細胞と分化したヒト二倍体線維芽細胞とを明確に分離可能であった (図 4)。この方法を応用して、分化誘導した細胞集団から、残存した未分化細胞を分離できる可能性が示され、今後再生医療分野への応用が期待される。

rBC2LCN の応用

従来、細胞の未分化性のチェックには抗体が使用されているが、抗体で染色した細胞から抗体を剥離することは現実的にはほとんど不可能である。rBC2LCN ストリッピング溶液【AiWashS1】は、rBC2LCN で染色した細胞から rBC2LCN を剥がすことができる試薬である。rBC2LCN で染色したヒト iPS 細胞の培養液を rBC2LCN ストリッピング溶液に置換し 30 分間培養するだけで染色を剥離することができる (図 5)。このストリッピング溶液による培養中の細胞への影響はほとんど見られず、染色を剥離後の細胞を、その後の培養や実験に使用することが可能となる。

従来、染色に使用されてきた抗体と比べ、低分子なレクチンによる未分化細胞の染色手法は、非常に簡便に鮮明な細胞染色を可能とし、さらに剥離することが可能であるため、この領域の

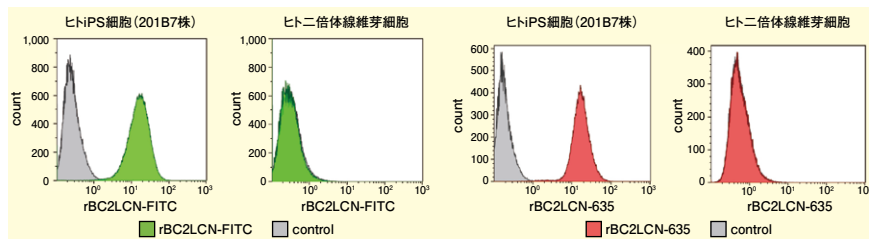


図 4. rBC2LCN-FITC、rBC2LCN-635 を用いたヒト iPS 細胞の分離
分散したヒト iPS 細胞 (201B7 株) とヒト二倍体線維芽細胞を各蛍光標識 rBC2LCN で染色しフローサイトメトリーに供した (使用濃度: 1/1,000)

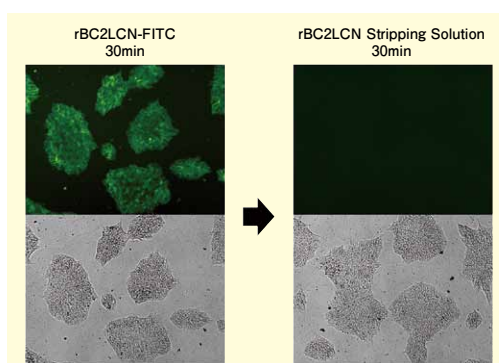


図 5. rBC2LCN-FITC で染色したヒト iPS 細胞から rBC2LCN の剥離

さまざまな研究に活用いただきたい。
※rBC2LCN-FITC、rBC2LCN-635、rBC2LCN-547 はいずれも同様の使用方法で細胞を染色でき、rBC2LCN ストリッピング溶液を用いて剥離が可能である。
rBC2LCN は国立研究開発法人産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門との共同開発品である。

【参考文献】

- 1) Onuma, Y., Tateno, H., Hirabayashi, J., Ito, Y. and Asashima, M. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **431** (3), 524-529 (2013).
- 2) Tateno, H., Matsushima, A., Hiemori, K., Onuma, Y., Ito, Y., Hasehira, K., Nishimura, K., Ohtaka, M., Takayasu, S., Nakanishi, M., Ikehara, Y., Nakanishi, M., Ohnuma, K., Chan, T., Toyoda, M., Akutsu, H., Umezawa, A., Asashima, M. and Hirabayashi, J. : *Stem Cells Transl. Med.*, **2** (4), 265-273 (2013).
- 3) Tateno, H., Toyota, M., Saito, S., Onuma, Y., Ito, Y., Hiemori, K., Fukumura, M., Matsushima, A., Nakanishi, M., Ohnuma, K., Akutsu, H., Umezawa, A., Horimoto, K., Hirabayashi, J. and Asashima, M. : *J. Biol. Chem.*, **286** (23), 20345-53 (2011).

未分化ヒト万能性幹細胞のライブセルイメージング試薬



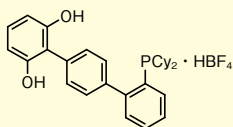
コード No.	品名	Excitation	Emission	規格	容量	希望納入価格(円)
rBC2LCN 【AiLecS1】						
180-02991 186-02993	rBC2LCN-FITC 【AiLecS1-FITC】	☐ ^F	495nm	520nm	細胞染色用	100 μl 100 μl × 5 20,000 80,000
186-03211 182-03213	rBC2LCN-547 【AiLecS1-547】	☐ ^F	551nm	565nm	細胞染色用	100 μl 100 μl × 5 30,000 120,000
185-03161 181-03163	rBC2LCN-635 【AiLecS1-635】	☐ ^F	634nm	654nm	細胞染色用	100 μl 100 μl × 5 30,000 120,000
029-18061 025-18063	BC2LCN 【AiLecS1】 Lectin, recombinant, Solution	☐ ^F	未標識品		糖鎖研究用	1mg 1mg × 5 30,000 照会
rBC2LCN 剥離溶液						
182-03171	rBC2LCN Stripping Solution 【AiWashS1】	☐ ^{Ref}	—	—	細胞培養用	10ml 15,000

☐^{Ref}: -2 ~ 10℃保存 ☐^F: -20℃保存 ☐^G: -80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

位置選択的カップリング配位子 Wako

Cy-DHTP・HBF₄

本品は、DHTP (Dihydroxyterphenylphosphine) 系の配位子です。本品を配位子として用いたカップリング反応では、フェノールのOH基やアニリンのNH₂基に対してオルト位選択的にカップリング反応が進行します。



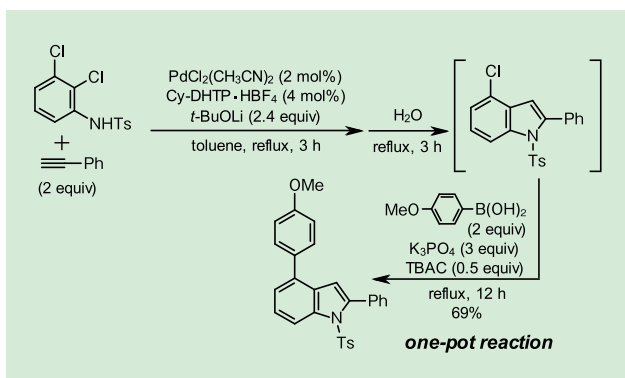
C₃₀H₃₆O₂P・BF₄=546.38
CAS No. 1219499-55-4

特長

- アミノ基や水酸基のオルト位選択的にカップリングが可能
- インドールやベンゾフランのワンポット合成が可能

反応例

ワンポット2置換インドール合成



【参考文献】

- 1) Yamaguchi, M., Katsumata, H. and Manabe, K. : *J. Org. Chem.*, **78**, 9270 (2013).
- 2) Yamaguchi, M. and Manabe, K. : *Org. Lett.*, **16**, 2386 (2014).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 042-33811	2 ¹ -(Dicyclohexylphosphino)-p-terphenyl-2,6-diol Tetrafluoroborate	有機合成用	250mg	11,000
NEW 048-33813	[Cy-DHTP・HBF ₄]		1g	30,000

薄層クロマトグラフ用 TLC プレート Wako

シリカゲル 70F₂₅₄ TLC プレート - ワコー

シリカゲル70F₂₅₄ TLCプレート-ワコーは、細孔径7nm (70 Å) で粒子のそろった多孔質シリカゲルをガラス板上に均一に塗布してあります。緑の蛍光物質が添加されており、分離されたスポットは紫外 (254nm) の照射により、緑色地に暗いスポットとして観察されます。

特長

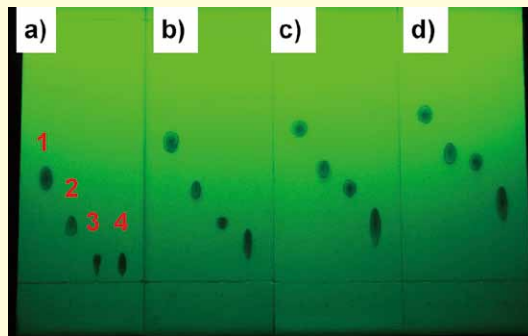
- 粒子径の均一なシリカゲルを使用し、分離能が向上

物性情報

シリカゲルの粒子径	5~15μm
シリカゲルの細孔径	7nm (70 Å)
シリカゲルの比表面積	450m ² /g
シリカゲルの細孔容量	0.8ml/g
シリカゲル層の厚さ	230~250μm
支持体	ガラスプレート
蛍光指示薬	単色蛍光物質 [254nm]

実験例

標準試料の展開



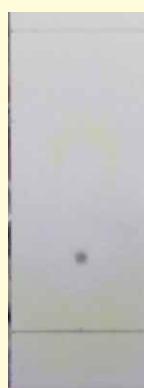
実験条件

- 【試料】
1. カフェイン
2. ナプロキセン
3. p-アセトアミドフェノール
4. p-ヒドロキシ安息香酸

【移動相】

クロロホルム：メタノール =
a) 95:5 b) 90:10
c) 85:15 d) 80:20
【検出】 UV254nm
【展開距離】 10cm

生薬標準品の展開



実験条件*

【試料】
サイコサポニン a
【移動相】
酢酸エチル：エタノール：水 = 8:2:1
【呈色試薬】
4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液を噴霧し、105℃で5分間加熱
【展開距離】 10cm

*日本薬局方 第16局
「サイコ」確認試験 (2)

コードNo.	品名	層厚 [mm]	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 193-17811	Silicagel 70F ₂₅₄ TLC Plate-Wako	0.25	薄層クロマトグラフ用	25枚 (20cm×20cm)	16,800

品目追加



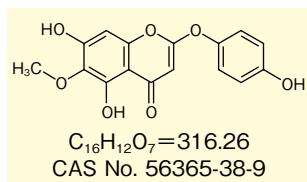
生薬試験用標準品

当社は、局方規格の生薬試験用標準品80品目、自主規格の高純度生薬試験用標準品70品目、計150品目を取り揃えており、品目は順次追加しています。生薬試験用標準品を網羅した生薬ガイドブックをご用意していますのでご要望の方は、当社営業または、代理店へお問合せ下さい。

カピラリシン標準品

カピラリシンは、生薬インテンコウなどに含まれる成分です。

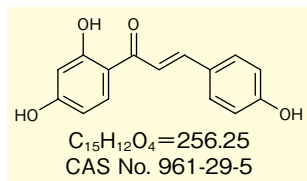
含量(HPLC): 98.0%以上
外 観: 白色~わずかにうすい黄色、結晶~粉末



イソクイリチゲニン標準品

イソクイリチゲニンは、生薬カンゾウに含まれている成分です。

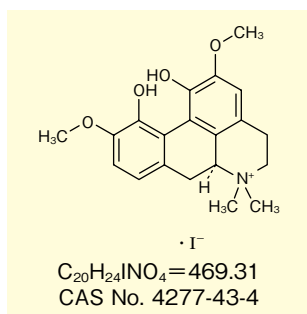
含量(HPLC): 96.0%以上
外 観: 黄色~赤褐色、結晶性粉末~粉末



マグノフロリンヨウ化物

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のマグノフロリンヨウ化物、定量用に適合します。葛根湯加川芎辛夷の確認試験に使用されます。

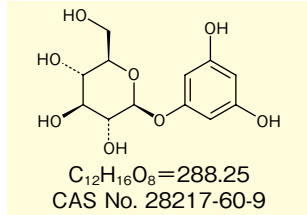
含量(qNMR): 95.0%以上
外 観: 白色~黄みのうすい灰色の結晶



フロリン標準品

フロリンは、生薬トウヒ、キジツに含まれている成分です。

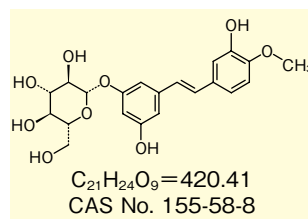
含量(HPLC): 98.0%以上
外 観: 白色の粉末



ラポンチシン

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のラポンチシン、薄層クロマトグラフィー用に適合します。ダイオウの純度試験に使用されます。

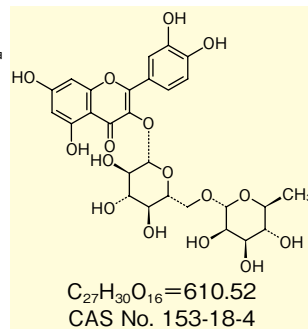
含量(HPLC): 98.0%以上
外 観: 白色~うすい黄褐色の結晶性の粉末



ルチン

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のルチン、薄層クロマトグラフィー用に適合します。サンザシの確認試験に使用されます。

含量(HPLC): 95.0%以上
外 観: うすい黄色~黄緑色の結晶又は結晶性の粉末



コードNo.	品 名	規 格	容量	希望納入価格(円)
NEW 034-22461	Capillarisin Standard	生薬試験用	20mg	45,000
NEW 099-06951	Isoliquiritigenin Standard	生薬試験用	10mg	17,000
NEW 134-18381	Magnoflorine Iodide	局方生薬試験用 (定量用)	10mg	38,000
NEW 162-26771	Phlorin Standard	生薬試験用	5mg	20,000
NEW 187-03121	Rhaponticin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグ ラフィー用)	5mg	16,000
NEW 184-03131	Rutin	局方生薬試験用 (薄層クロマトグ ラフィー用)	20mg	8,000

和光純薬時報 Vol. 82 No. 4 訂正案内

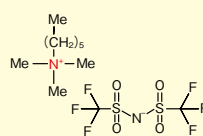
和光純薬時報 Vol. 82 No. 4の記事中に誤りがございました。下記の通り訂正をご案内させていただくとともに、深くお詫び申し上げます。

記

〈訂正内容〉
掲載箇所: p. 14 イオン液体 訂正箇所: 構造式 ⑤、⑥

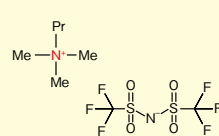
訂正内容:

⑤【正】



$C_9H_{22}N \cdot C_2F_6NO_4S_2=424.42$
CAS No. 210230-43-6

⑥【正】



$C_6H_{16}N \cdot C_2F_6NO_4S_2=382.34$
CAS No. 268536-05-6

当社HP掲載pdfファイルは訂正しています。

マイコトキシン試験用標準液 品目追加 Wako フザリウムトキシン混合標準液

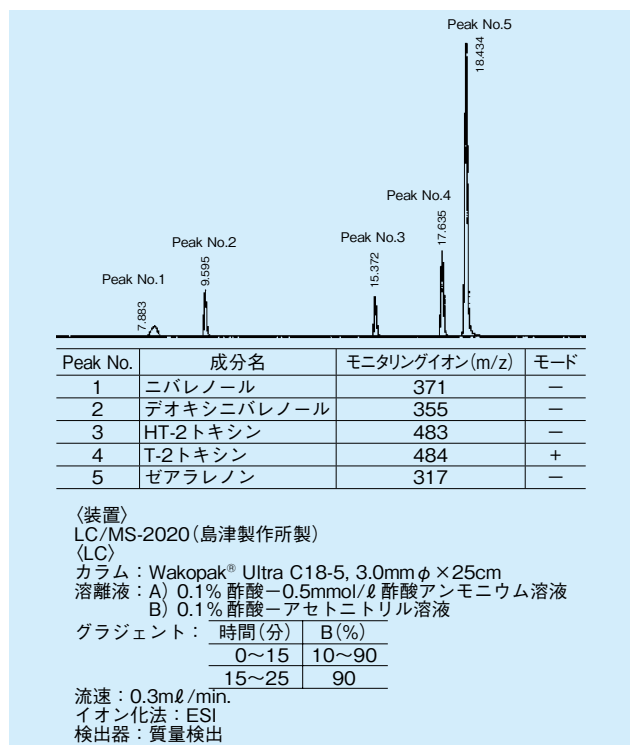
本品は、小麦及び大麦を汚染する主要フザリウムトキシン5種（デオキシニバレノール、ニバレノール、T-2トキシン、HT-2トキシン、ゼアラレノン）の混合標準液です。一斉分析法の検討などにぜひご活用下さい。

混合成分

- デオキシニバレノール (25 µg/ml)
- HT-2トキシン (5 µg/ml)
- ニバレノール (25 µg/ml)
- ゼアラレノン (25 µg/ml)
- T-2トキシン (5 µg/ml)

分析例

LC/MSによるクロマトグラム



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
068-06401	Fusarium Toxins Mixture Standard Solution (Acetonitrile Solution) [E°][Ref][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	40,000

関連商品

フザリウムトキシンを分析する際に、ベルカロール及びゼアララノンを内部標準物質として使用する手法が提案されています¹⁾。

【参考文献】

1) Nakagawa, H. et al.: J. Anal. Bioanal. Tech., S6-002 (2014).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
225-02231	Verrucarol Standard [E°][毒害等]	マイコトキシン試験用	5mg	60,000
264-02141	Zearalanone Standard [E°]	マイコトキシン試験用	5mg	34,000

分析用カラム

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
233-63751	Wakopak® Ultra C18-5 φ3.0mm × 250mm(D)	1本	62,000

アフラトキシン標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-24341	Aflatoxins Mixture Standard Solution (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ each 25 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	28,000
010-24301	Aflatoxin B ₁ Standard Solution (25 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	20,000
017-24311	Aflatoxin B ₂ Standard Solution (25 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	20,000
014-24321	Aflatoxin G ₁ Standard Solution (25 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	20,000
011-24331	Aflatoxin G ₂ Standard Solution (25 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	20,000
013-25751	Aflatoxin M ₁ Standard Solution (0.5 µg/ml Acetonitrile Solution) [E°][Ref][II][毒害等]	マイコトキシン試験用	1ml×5A	40,000

マイコトキシン標準品

コードNo.	品名	含量保証	規格	容量	希望納入価格(円)
014-22621	3-Acetyldeoxynivalenol Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	70,000
018-23481	15-Acetyldeoxynivalenol Standard [Ref][毒害等]	95.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	80,000
015-23491	Aflatoxin B ₁ Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	70,000
014-24201	Aflatoxin B ₂ Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	70,000
018-23501	Aflatoxin G ₁ Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	90,000
015-23511	Aflatoxin G ₂ Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	110,000
047-31041	Deoxynivalenol Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	90,000
044-31051	Diacetoxyscirpenol Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, cGC)	マイコトキシン試験用	5mg	30,000
061-05771	Fumonisin B ₁ Standard [Ref][毒害等]	95.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	90,000
066-06181	Fumonisin B ₂ Standard [E°]	95.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	照会
065-05431	Fusarenon-X Standard [Ref][毒害等]	95.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	130,000
087-09871	HT-2 Toxin Standard [E°][毒害等]	97.0%以上 (qNMR, cGC)	マイコトキシン試験用	5mg	100,000
142-08971	Neosolaniol Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, cGC)	マイコトキシン試験用	5mg	80,000
149-08741	Nivalenol n-Hydrate Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	90,000
153-02961	Ochratoxin A Standard [E°]	98.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	75,000
168-21631	Patulin [E°]	98.5%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	10mg	30,000
190-16081	Sterigmatocystin Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	80,000
204-17731	T-2 Toxin Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (qNMR, cGC)	マイコトキシン試験用	5mg	45,000
266-01981	Zearalenone Standard [Ref][毒害等]	98.0%以上 (HPLC)	マイコトキシン試験用	5mg	50,000

[毒害等]: 生物・毒素兵器の製造、使用防止のため「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証が必要です。

品目追加



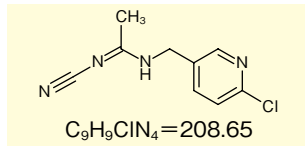
ポジティブリスト関連標準品

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います。

農薬標準品

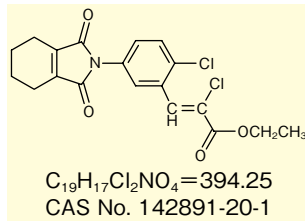
■ アセタミプリド代謝物 IM-2-1 標準品

化学名: *N*'-[6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-*N*²-cyanoacetamide
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色~わずかにうすい黄色、結晶性粉末~粉末



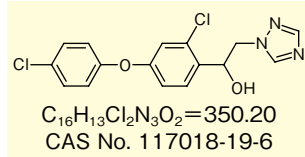
■ シニドンエチル標準品

化学名: Ethyl (Z)-2-Chloro-3-[2-chloro-5-(1,2-cyclohex-1-enedicarboximido)phenyl]acrylate
 別名: Lotus
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色、結晶性粉末~粉末
 溶解性: 水 0.057mg/ℓ (20℃)。アセトン 213、メタノール 8、トルエン 384 (g/ℓ, 20℃)
 備考: 除草剤



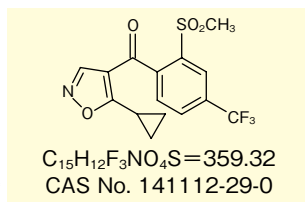
■ ジフェノコナゾール代謝物 D 標準品

化学名: 1-[2-Chloro-4-(4-chlorophenoxy)phenyl]-2-(1*H*-1,2,4-triazole-1-yl)ethanol
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色~ほとんど白色、結晶性粉末~粉末



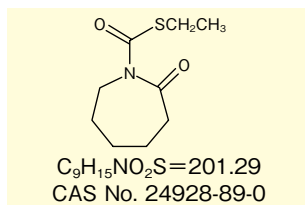
■ イソキサフルトール標準品

化学名: 5-Cyclopropyl-4-(2-methylsulfonyl-4-trifluoromethylbenzoyl)-isoxazole
 別名: Balance
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色~わずかにうすい黄色、結晶性粉末~粉末
 溶解性: 水 6.2mg/ℓ (pH 5.5, 20℃)。アセトン 293、ジクロロメタン 346、酢酸エチル 142、*n*-ヘキサン 0.10、トルエン 31.2、メタノール 13.8 (g/ℓ, 20℃)
 備考: 除草剤



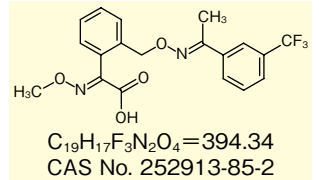
■ 2-ケトモリネート標準品

化学名: *S*-Ethyl Hexahydro-2-oxo-1*H*-azepine-1-carbothioate
 含量 (cGC): 98.0% 以上
 外観: 白色~うすい黄色、塊、又は融解時、無色~うすい黄色、澄明の液体



■ トリフロキシストロビン代謝物 B 標準品

化学名: (*E,E*)- α -(Methoxyimino)-2-(((1-[3-(trifluoromethyl)phenyl]ethylidene)amino)oxymethyl)benzeneacetic Acid
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色、結晶性粉末~粉末

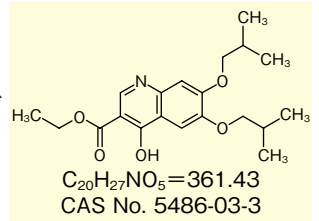


コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-25851	Acetamidiprid Metabolite IM-2-1 Standard	Res	残留農薬試験用 100mg	28,000
034-24041	Cinidon-ethyl Standard	Res	残留農薬試験用 100mg	18,000
045-33661	Difenoconazole Metabolite D Standard	Res	残留農薬試験用 100mg	30,000
090-07101	Isoxaflutole Standard	Res	残留農薬試験用 100mg	20,000
116-01031	2-Ketomolinate Standard	FE	残留農薬試験用 100mg	40,000
208-20061	Trifloxystrobin Metabolite B Standard	Res	残留農薬試験用 100mg	30,000

動物用医薬品標準品

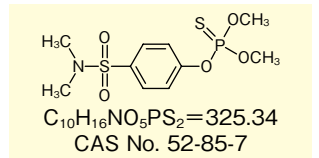
■ バクイノレート標準品

化学名: Ethyl 4-Hydroxy-6,7-bis(2-methylpropoxy)-3-quinolinecarboxylate
 含量 (HPLC): 98.0% 以上
 外観: 白色~うすい黄色、結晶性粉末~粉末



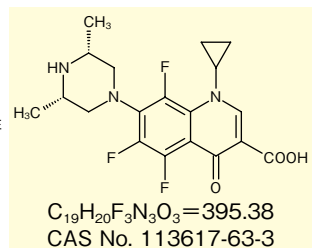
■ ファムフル標準品

化学名: *O*-4-Dimethylsulfamoylphenyl *O,O*-Dimethyl Phosphorothioate
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色、結晶性粉末~粉末



■ オルビフロキサシン標準品

化学名: 1-Cyclopropyl-7-[(3*S*,5*R*)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl]-5,6,8-trifluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic Acid
 含量 (qNMR): 98.0% 以上
 外観: 白色~わずかにうすい黄色、結晶性粉末~粉末



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
021-18761	Buquinolate Standard	Res	高速液体用 クロマトグラフ用 100mg	45,000
069-06431	Famphur Standard	FE	高速液体用 クロマトグラフ用 100mg	18,000
154-03351	Orbifloxacin Standard	Res	高速液体用 クロマトグラフ用 100mg	15,000

その他のポジティブリスト関連品目は下記よりご参照下さい。
 当社 HP → カテゴリーから選ぶ → 分析・環境 → 食品分析 → 01. 残留農薬・動物用医薬品 (ポジティブリスト制度)

Res°: 2 ~ 10℃保存 | FE°: 20℃保存 | 80°: 80℃保存 | 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
 掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

抗りん酸化抗体不要！
りん酸化タンパク質研究用ポリアクリルアミドゲル
スーパーセップ™ Phos-tag® シリーズ

本品は、Phos-tag® アクリルアミドを重合させたタンパク質電気泳動用プレキャストゲルです。Phos-tag® は広島大学医薬分子機能科学研究室で開発されたりん酸基を捕捉する機能性分子です。ゲルに含まれるPhos-tag® がりん酸化タンパク質を捕捉し、りん酸化タンパク質の泳動速度を遅らせます。これにより、りん酸化タンパク質と非りん酸化タンパク質を異なるバンドとして検出できます。本品は電気泳動槽「イージーセパレーター™」と併せてご使用下さい。

製品仕様

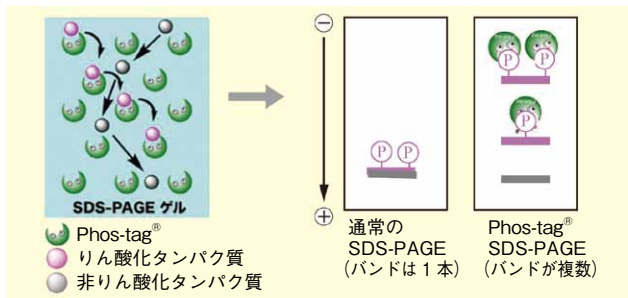
ウェル数	13	17
ウェル容積(μℓ)	30	25
プレートサイズ	100×100×3 (mm)	
ゲルサイズ	90×85×1 (mm)	



Phos-tag® SDS-PAGE の原理

りん酸化タンパク質と非りん酸化タンパク質とでは、分子量があまり変わらないため、通常のSDS-PAGEでそれらを分離することは困難です。

Phos-tag® が含まれたゲルでSDS-PAGE (Phos-tag® SDS-PAGE) を行うと、りん酸化タンパク質はそのりん酸化の程度に応じて泳動速度が遅くなります。



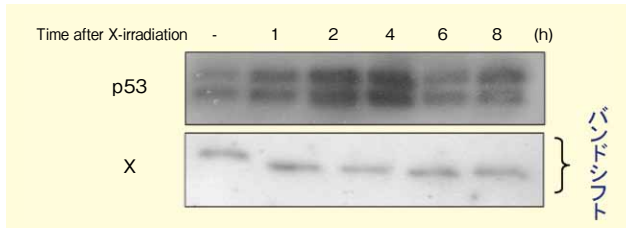
使用例

α-カゼインとその脱りん酸化物の分離

泳動条件：30mA/ゲル(定電流), 60分
 サンプル：5μg/lane α-カゼイン, ウシ乳由来とその脱りん酸化物 [コードNo. 038-23221]
 サンプルバッファー：試料用緩衝液 (2ME+) (×4) [コードNo. 191-13272]
 ランニングバッファー：SDS-PAGE バッファー, pH 8.5 [コードNo. 192-16801]
 染色：クイック CBB プラス [コードNo. 174-00553]

P10% (左)：スーパーセップ™ Phos-tag® (50μmol/ℓ), 10%, 13ウェル
 P15% (中)：スーパーセップ™ Phos-tag® (50μmol/ℓ), 15%, 13ウェル
 A15% (右)：スーパーセップ™ エース, 15%, 13ウェル (Phos-tag® 不含ゲル)

りん酸化状態の経時変化



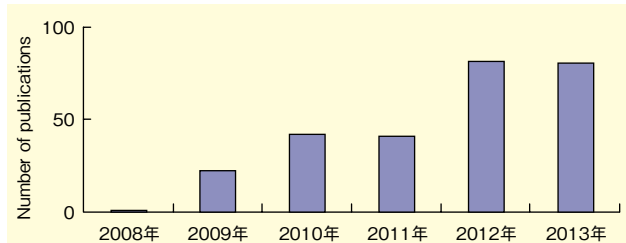
ヒト肺がん由来 Lu99 細胞に X 線 (5Gy) を照射し、経時的に細胞を回収した。細胞抽出液を調製し、スーパーセップ™ Phos-tag® (50μmol/ℓ), 10%, 13ウェルを用いて SDS-PAGE を行った。

ゲルを 10mmol/ℓ EDTA を含むトランスファーバッファーで振とう後、PVDF 膜へ転写した。メンブレンは、2% Milk/TBS-T でブロッキングした後、一次抗体と反応させた (上段：p53, 下段：細胞周期関連タンパク質)。検出は化学発光試薬を用いて行った。

p53 は、X 線照射により、タンパク質の蓄積が 4 時間後をピークに見られた。プロテイン X は、X 線照射により、りん酸化の状態が変化することがわかった。

(データ提供：東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター放射線分子医学部門 榎本助教)

<Phos-tag® 製品が使用された文献数の推移>



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
192-17401	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 6%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
199-17391	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 6%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000
195-17371	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 7.5%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
192-17381	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 7.5%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000
193-16711	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 10%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
190-16721	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 10%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000
195-16391	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 12.5%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
193-16571	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 12.5%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000
193-16691	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 15%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
196-16701	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 15%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000
197-16851	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 17.5%, 13well	電気泳動用	5枚	30,000
194-16861	SuperSep™ Phos-tag® (50 μmol/ℓ), 17.5%, 17well	電気泳動用	5枚	30,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
058-07681	EasySeparator™	電気泳動用	1セット	52,000
038-23221	α-Casein, from Bovine Milk, Dephosphorylated	生化学用	1mg	5,000
034-23223	α-Casein と脱りん酸化 α-Casein が含まれています。		10mg	15,000

Phos-tag® 製品一覧は当社 HP をご参照下さい。

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/phos-tag/>

※Phos-tag® は、広島大学小池教授の登録商標です。

Refr...2 ~ 10°C 保存
 E... 20°C 保存
 80... 80°C 保存
 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
 掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

アビジン - 磁気ビーズの決定版

MagCapture™ タマビジン® 2-REV

本品は、タマビジン® 2-REVを固相化した磁気ビーズです。タマビジン® 2-REVは新規アビジン様タンパク質「タマビジン® 2」のアミノ酸改変体で、ビオチンとの結合力を低減することにより、可逆的なビオチン結合複合体を形成することができます。そのため、過剰ビオチンの添加により、ビオチン化分子の競合溶出が可能です。

タンパク質、核酸などさまざまなビオチン化分子の回収・精製にご利用下さい。

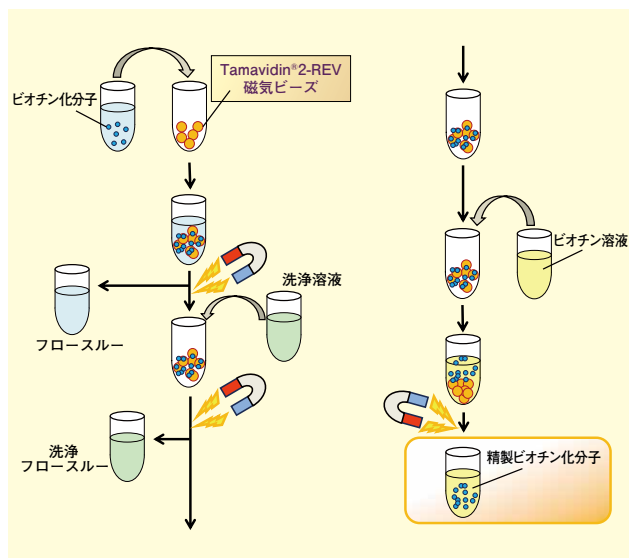
特長

- 磁気でビーズを集積させることにより回収操作時間短縮
- 非特異的吸着の低減
- ビオチン競合溶出によりマイルドな条件下で回収可能
- さまざまなアプリケーションへの適用

アプリケーション例

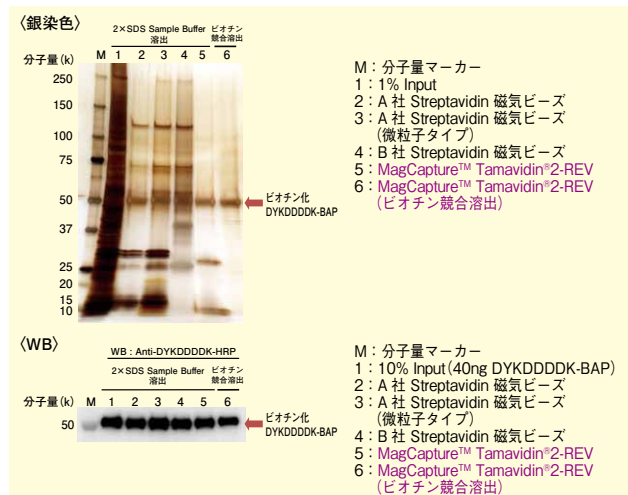
- ビオチン化分子の回収・精製
- 免疫沈降
- プルダウンアッセイ
- RNA プルダウンアッセイ

操作概要



データ

細胞ライセートからのビオチン化DYKDDDDK-BAP回収



ビオチン化 DYKDDDDK-BAP 10ng を添加した K562 細胞溶解液 (5×10⁶ cells 相当) から従来のストレプトアビジン磁気ビーズ及び MagCapture™ タマビジン® 2-REV を用いてビオチン化 DYKDDDDK-BAP を回収 (SDS 溶出及びビオチン溶出) した。

従来品よりも低バックグラウンドでビオチン化 DYKDDDDK-BAP を回収することができた。


その他のデータは当社 HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/TMREV/index.htm>) をご参照下さい。

〈ライセンスについて〉






Tamavidin®/タマビジン® は日本たばこ産業株式会社の登録商標です。当社では、日本たばこ産業株式会社からライセンスを受けて販売しています。

【参考文献】

- 1) Takakura, Y., Sofuku, K. and Tsunashima, M. : *J. Biotechnol.*, **164** (1), 19 (2013).
- 2) 請川亮, 西部隆宏, 定村佳房 : *Med. Sci. Digest*, **40**, 35 (2014).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
136-18341	MagCapture™ Tamavidin® 2-REV 	遺伝子研究用	2ml	40,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
023-08711	(+) -Biotin 	和光一級	100mg	2,400
023-08716			500mg	4,800
209-18261			1mg	8,500
205-18263	Tamavidin® 2, recombinant 	免疫化学用	5mg	25,000
203-18264			25mg	120,000
203-19401	Tamavidin® 2-REV, recombinant 	免疫化学用	1mg	18,000
209-19403	ビオチンと可逆的結合性		5mg	70,000
202-19351	Tamavidin® 2-LPI, recombinant 	免疫化学用	1mg	12,000
208-19353	非特異的結合低減性		5mg	48,000
209-19361	Tamavidin® 2-HOT, recombinant 	免疫化学用	1mg	18,000
205-19363	超耐熱・有機溶媒耐性		5mg	70,000

組織固定液



16w/v% パラホルムアルデヒド溶液, メタノールフリー

パラホルムアルデヒドは、高い反応性や、細胞透過性を持つ試薬のため、細胞内のタンパク質や核酸の可逆的な架橋剤として、細胞・組織固定化剤として広く使用されています。

本品は、16w/v% パラホルムアルデヒド溶液に調製した1ml と 10ml のアンプル包装（不活性ガス封入）ですので、保存時の酸化による酸産生の心配がなく、開封した時いつでも“フレッシュ”な状態でご使用頂くことができます。



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
167-25981	16w/v% Paraformaldehyde Solution, Methanol free	電子顕微鏡用	1ml×10A	8,000
163-25983			10ml×10A	10,500

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
023-17361	Bouin Solution	病理研究用	1ℓ	8,000
034-17711	Carnoy Solution	組織固定用	1ℓ	6,200
071-02031	10% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	2ml×5A	5,700
072-02262	20% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	25ml	2,400
076-02265		電子顕微鏡用	500ml	12,500
077-06271	25% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	10ml×10A	11,000
071-01931	70% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	2ml×5A	10,200
161-20141	4% Paraformaldehyde Phosphate Buffer Solution	組織固定用	100ml	2,200

細胞観察に



活性酸素特異的蛍光プローブ

当社では、生細胞の過酸化水素及びスーパーオキシドのイメージングやフローサイトメトリーによる細胞分析に使用できる蛍光プローブをラインアップしています。

BES-H₂O₂-Ac、BES-H₂O₂ 及び PF6-AM は、過酸化水素を特異的に可視化可能な蛍光色素です。また、BES-So-AM 及び BES-So は、スーパーオキシドを特異的に可視化可能です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-17811	BES-H ₂ O ₂ -Ac	細胞生物学用	1mg	25,000
024-18751	BES-H ₂ O ₂ (Cell-impermeant)	細胞生物学用	1mg	25,000
167-26841	PF6-AM	細胞生物学用	1mg	33,000
163-26843			5mg	135,000
021-17801	BES-So-AM	細胞生物学用	1mg	25,000
028-16211	BES-So (Cell-impermeant)	細胞生物学用	1mg	25,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
チオール反応性蛍光プローブ				
229-02131	ViVidFluor Cell Blue CMAC	細胞生物学用	1mg	8,000
225-02133			5mg	22,000
226-02141	ViVidFluor Cell Blue CMHC	細胞生物学用	1mg	8,000
222-02143			5mg	22,000
223-02151	ViVidFluor Cell Green CMFDA	細胞生物学用	1mg	22,000
025-15481	BES-Thio	細胞生物学用	1mg	25,000
224-02181	ViVidFluor Cell Orange CMTMR	細胞生物学用	1mg	25,000
ミトコンドリア膜電位感受性蛍光プローブ				
187-01703	Rhodamine123	生化学用	25mg	12,000
181-01701			50mg	17,000
047-28231	Dihydrorhodamine 123 Hydrochloride	生化学用	10mg	27,000
106-00131	JC-1	細胞生物学用	5mg	57,000
203-18041	Tetramethylrhodamine Methyl Ester Perchlorate [TMRM]	細胞生物学用	25mg	26,900
ニューロントレーシング蛍光プローブ/逆行性・順行性トレーサー蛍光プローブ				
045-33421	DiIC ₁₈ (3)	生化学用	10mg	7,200
041-33423			50mg	23,000
ニューロン特異的プローブ				
125-06281	Lucifer Yellow CH Dilithium Salt	生化学用	25mg	23,500
128-06271	Lucifer Yellow CH Dipotassium Salt	生化学用	25mg	17,000
その他シナプス観察蛍光プローブ				
220-02161	ViVidFluor Neuro Green	細胞生物学用	1mg	12,500
226-02163			5mg	44,000
222-02121	ViVidFluor Neuro Red	細胞生物学用	1mg	13,000
228-02123			5mg	43,000
アクチン特異的蛍光プローブ				
165-21641	Phalloidin, Rhodamine X conjugated	細胞生物学用	300回用	53,000
068-06261	Fluorescein, Phalloidin	細胞生物学用	300units	30,000
181-02921	Rhodamine, Phalloidin	細胞生物学用	300units	35,000
DNA特異的蛍光プローブ				
045-30361	4',6-Diamidino-2-phenylindole Dihydrochloride <i>n</i> -Hydrate [DAPI]	分子生物学用	10mg	12,000
083-09971	Bisbenzimidazole H33258 Trihydrochloride	細胞生物学用	100mg	13,500
080-09981	Bisbenzimidazole H33342 Trihydrochloride	細胞生物学用	100mg	13,500
169-26281	Propidium Iodide	細胞生物学用	10mg	5,200
165-26283			25mg	7,500
163-26284			100mg	20,000
016-25241	7-Aminoactinomycin D [7-AAD]	生化学用	1mg	20,000
054-08761	Ethidium Homodimer 1	生化学用	1mg	30,000
β-ガラクトシダーゼ蛍光プローブ				
065-06271	Fluorescein Di-β-D-galactopyranoside [FDG]	細胞生物学用	1mg	9,800
061-06273			5mg	29,800
048-33391	5-Dodecanoylaminofluorescein Di-β-D-Galactopyranoside [C ₁₂ -FDG]	細胞生物学用	1mg	14,800
044-33393			5mg	59,000
046-33331	9 <i>H</i> -(1,3-Dichloro-9,9-dimethylacridin-2-one-7-yl) β-D-Galactopyranoside [DDAO Galactoside]	細胞生物学用	1mg	14,500
042-33333			5mg	52,000

詳細は、当社 HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/probe/index.htm>) をご参照下さい。

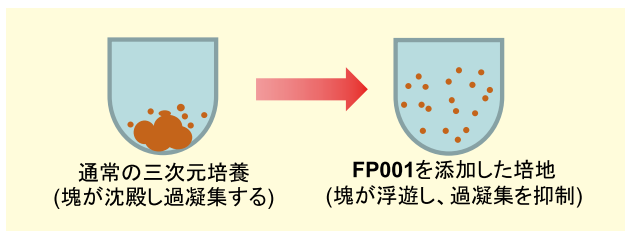
Ref^o…2～10℃保存 Ref^o…20℃保存 Ref^o…80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

新規三次元培養培地 日産化学工業株式会社 FCeM[®] シリーズ

FCeM[®] は、細胞凝集塊を均一分散するポリマー“FP 001”を配合した三次元培養培地です。FP 001 含有培地の効果により、非接着状態での細胞の増殖や機能を維持／促進します。

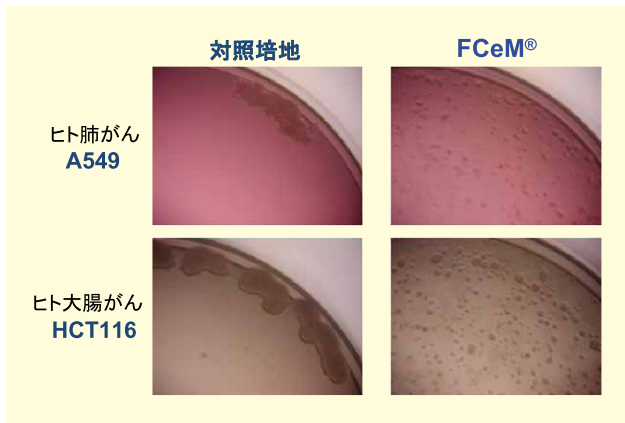
特長

- スフェア（スフェロイド）の浮遊培養が可能
- スフェアの過凝集を抑制
増殖能が改善され、細胞本来の機能を取得できます。
薬剤や栄養成分の浸透が改善されます。
- 単一細胞からスフェアを作製可能
- 粘性は水と同等であり、化合物添加が容易
- BSA など動物由来物質は不含







データ

がん細胞の増殖の様子（培養5日目）



FCeM[®] は、A549 及び HCT116 による巨大凝集塊の形成を抑制した。

コード No.	メーカーコード	製品名	ベース培地	容量	希望納入価格(円)
387-06265	SJ000546	FCeM [®] -D 	D-MEM	500ml	25,000
380-06255	SJ000545	FCeM [®] -R 	RPMI-1640	500ml	25,000
384-06275	SJ000549	FCeM [®] -MEM 	MEM	500ml	25,000
383-06245	SJ000500	FCeM [®] -D/F 	D-MEM/ Ham'sF12	500ml	25,000

細胞培養用容器

G-Rex(Gas Permeable Rapid Cell Expansion)

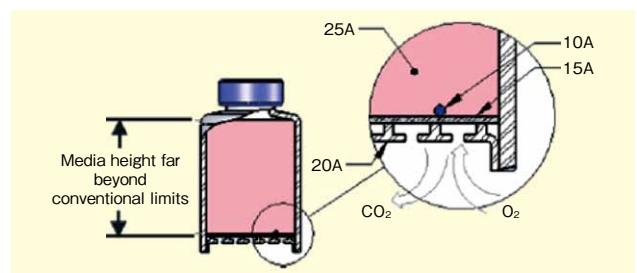
G-Rex は、WilsonWolf社製の細胞培養用ガス透過性の培養容器であり、迅速な細胞増殖に貢献します。

特長

- 非接着性細胞の培養に有用
T細胞、NK、TIL、Treg、CIK、HeLa、CHO、SF 9 など
- 特別な設備は不要
標準的なインキュベーターで培養でき、ポンプやミキサー、振動は不要です。

構造

容器の底面からガスが供給されることから、従来の容器よりも多量の培養液下で培養が可能です。十分な栄養素、酸素が供給されます。



G-Rex 断面図

10A：細胞、15A：ガス透過性膜、20A：補助膜、25A：培養液

仕様

品目	表面積	許容培養液量	サイズ	細胞上限目安
G-Rex10	10cm ²	40ml	2.0(D)×2.5(H)inch	1.0~3.0×10 ⁸ (培地交換2回)
G-Rex100	100cm ²	450ml	4.5(D)×4.0(H)inch	1.0~3.0×10 ⁹ (培地交換2回)
G-Rex100M	100cm ²	1,300ml	4.5(D)×6.0(H)inch	1.0~3.0×10 ⁹ (培地交換不要)

※1 inch=2.54cm



コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
551-21921	80040S	G-Rex 10	1個	30,000
558-21931	80500S	G-Rex 100	1個	36,000
555-21941	81100S	G-Rex 100M	1個	52,000

詳細はメーカー HP (<http://www.wilsonwolf.com>) をご参照、もしくは資料をご請求下さい。

CultureSure® シリーズ 培地添加剤 CultureSure® 滅菌水、糖類、無機塩類

本品は、エンドトキシン試験、無菌試験、マイコプラズマ試験済みの細胞培養用試薬です。当社培地原料として実績があり、安心してご使用いただけます。

特長

- エンドトキシン試験、無菌試験、マイコプラズマ試験済み
- 当社培地原料としての実績あり
- トレーサブルな細胞培養用試薬

滅菌水

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
039-24155	CultureSure® Sterile Water	細胞培養用	500ml	2,500

糖類

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-23981	CultureSure® D(+)-Glucose,	細胞培養用	100g	15,000
034-23985	Animal-derived-free		500g	40,000

無機塩類

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
037-24031	CultureSure® Calcium Chloride,	細胞培養用	100g	15,000
039-24035	Animal-derived-free		500g	40,000
032-24081	CultureSure® Potassium Chloride,	細胞培養用	100g	15,000
034-24085	Animal-derived-free		500g	40,000
030-24261	CultureSure® Manganese (II) Chloride Tetrahydrate,	細胞培養用	100g	15,000
032-24265	Animal-derived-free		500g	40,000
035-24191	CultureSure® Zinc Chloride,	細胞培養用	100g	15,000
037-24195	Animal-derived-free		500g	40,000
038-24181	CultureSure® Magnesium Sulfate,	細胞培養用	100g	15,000
030-24185	Animal-derived-free		500g	40,000
033-24251	CultureSure® Cobalt (II) Chloride Hexahydrate,	細胞培養用	100g	15,000
035-24255	Animal-derived-free		500g	40,000
038-24321	CultureSure® Copper (II) Chloride Dihydrate,	細胞培養用	100g	15,000
030-24325	Animal-derived-free		500g	40,000
036-24241	CultureSure® Hexaammonium Heptamolybdate Tetrahydrate,	細胞培養用	100g	照会
038-24245	Animal-derived-free		500g	照会
033-24011	CultureSure® Sodium Chloride,	細胞培養用	100g	照会
035-24015	Animal-derived-free		500g	照会
032-24221	CultureSure® Iron (II) Sulfate Heptahydrate,	細胞培養用	100g	15,000
034-24225	Animal-derived-free		500g	40,000

ビタミン類も順次商品化予定です。当社営業または当社代理店へお問合せ下さい。

ROCK 阻害剤 / ES・iPS 細胞研究に! Y-27632

本品は、選択的かつ強力な ROCK 阻害剤です。ROCK シグナル伝達系による血管平滑筋の収縮など、種々の作用を有しています。ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞の細胞分散時に細胞死を抑制する、また凍結保存後の細胞生存率が向上すると報告されています。

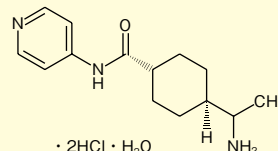
[ROCK: Rho-associated coiled-coil forming kinase/Rho 結合キナーゼ / セリン・スレオニンタンパクりん酸化酵素]

特長

- 数多くの論文掲載実績
各種プロトコールにも掲載されています。
- バルク対応可能
バルク容量はご相談下さい。
- 製造販売ライセンス受諾品
株式会社エーピーアイコーポレーションよりライセンスを受けて製造販売しています。

製品概要

- 外観：白色～うすい黄色、結晶性粉末～粉末
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上
- 溶解性：水 (2.5mg/ml)
- 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ (c=0.25, H₂O)：+1 ~ +7°



$C_{14}H_{21}N_3O \cdot 2HCl \cdot H_2O = 338.27$
CAS No. 331752-47-7



使用法例

- 無フィーダー細胞下でのヒト iPS 細胞 / ヒト ES 細胞の継代・凍結・凍結ストックの解凍
終濃度 10 μmol/ℓ (添加溶液は 10 mmol/ℓ)

【参考文献】

- 1) Ito, H. *et al.*: *Liver Int.*, **32**, 592 (2012).
- 2) Kawamata, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **107**, 14223 (2010).
- 3) Claassen, D. A. *et al.*: *Mol. Reprod. Dev.*, **76**, 722 (2009).
- 4) Martin-Ibanez, R. *et al.*: *Hum. Reprod.*, **23**, 2744 (2008).
- 5) Watanabe, K. *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **25**, 681 (2007).
- 6) Sakamoto, K. *et al.*: *J. Pharmacol. Sci.*, **92**, 56 (2003).
- 7) Nishimaru, K. *et al.*: *J. Pharmacol. Sci.*, **92**, 424 (2003).
- 8) Uehata, M. *et al.*: *Nature*, **389**, 990 (1997).

[次頁に続く]

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
257-00511	Y-27632	細胞生物学用	1mg	12,000
253-00513			5mg	36,000
251-00514			25mg	140,000
257-00516			1g	照会

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
030-24021	CultureSure® Y-27632	細胞培養用	1mg	15,000
036-24023	マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験、細胞毒性確認済みの製品		5mg	40,000
034-24024			25mg	150,000
253-00591	5mmol/l Y-27632 Solution	細胞培養用	300μl	20,000
180-02991	rBC2LCN-FITC [AiLecS1-FITC]	細胞染色用	100μl	20,000
186-02993			100μl×5	80,000
185-03161	rBC2LCN-635 [AiLecS1-635]	細胞染色用	100μl	30,000
181-03163			100μl×5	120,000
064-05381	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant, Animal-derived-free	細胞生物学用	50μg	39,000
068-05384	[basicFGF/FGF2/FGFb]		100μg	66,000
060-05383			1mg	照会
195-16031	StemSure® Freezing Medium	細胞培養用	100ml	12,000
197-17571	StemSure® hPSC Medium Δ	細胞培養用	100ml	6,000
193-17573	※bFGFは含まれておりません。		100ml×4	20,000
197-16775	StemSure® Serum Replacement [SSR]	細胞培養用	500ml	40,000

プレミックスタイプ



汎用粉末培地、緩衝剤

当社では、汎用基礎培地をはじめとする細胞培養関連試薬を多数取り揃えています。この度、粉末のプレミックス・使い切りタイプの製品に、Ham's F-12、D-MEM/Ham's F-12 を追加しました。

特長

- 調製が簡単
- 省スペース
- 安価



使用法

1. 培地の最終容積よりも2~3%少ない量の精製水を用意し、本品1袋を溶解します。
2. アルミ袋内をすすぎ、袋中の粉末をすべて溶解します。
3. ラベル記載量のNaHCO₃を添加します。※D-PBS(-)にNaHCO₃の添加は不要です。
4. 精製水を加え最終容積とし、スターラーで泡立てないように攪拌して溶解します。
5. フィルター滅菌を行ってから使用します。

■ 粉末培地

品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシン、細胞増殖試験など

コード No.	品名	グルタミン	フェニールレド	ヒルビン酸ナトリウム	備考	規格	容量	希望納入価格 (円)
049-33561	D-MEM (High Glucose), Powder	●	●	—	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用×10	9,000
045-33563		●	—	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用	7,000
297-72501		●	—	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用×10	9,100
293-72503		●	—	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用	7,300
054-09001	E-MEM, Powder	●	●	—	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用×10	8,500
050-09003		●	●	—	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用	6,300
084-10153	Ham's F-12, Powder	●	●	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用×10	11,000
082-10154		●	●	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用	9,000
043-33743	D-MEM/Ham's F-12, Powder	●	●	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用×10	11,500
041-33744		●	●	●	炭酸水素Na不含	細胞培養用	10用	9,500

■ 緩衝剤

品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシンなど

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
293-72601	D-PBS (-), Powder	細胞培養用	10用×10	7,100
299-72603			10用	5,800

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
195-16411	7.5w/v% Sodium Bicarbonate Solution	細胞培養用	100ml	1,800
019-23891	Amphotericin B Suspension	細胞培養用	50ml	6,600
026-18711	10mg/ml Blasticidin S Hydrochloride, HEPEs Solution	遺伝子研究用	1ml	7,200
022-18713			1ml×10	43,000
071-06431	50mg/ml G-418 Sulfate Solution, Animal-derived-free	遺伝子研究用	20ml	15,000
077-06433			100ml	60,000
078-06061	Gentamicin Sulfate Solution	細胞培養用	10ml	8,000
117-00961	Kanamycin Sulfate Solution	細胞培養用	20ml	6,000
133-15931	1mg/ml Mitomycin C Solution	細胞培養用	1ml	10,000
164-25251	Penicillin-Streptomycin Solution (×50)	細胞培養用	100ml	3,000
168-23191	Penicillin-Streptomycin Solution (×100)	細胞培養用	100ml	3,500
161-23181	Penicillin-Streptomycin-Amphotericin B Suspension (×100)	細胞培養用	100ml	4,600
161-23201	Penicillin-Streptomycin-L-Glutamine Solution (×100)	細胞培養用	100ml	4,000

Ref: 2~10℃保存 E: 20℃保存 80: 80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。







プロテアーゼ活性の低いコラゲナーゼ Wako コラゲナーゼ, 精製品




本品は、クロマトグラフィー精製されたコラゲナーゼです。クルードのコラゲナーゼに比べ、プロテアーゼ活性が低く、他のプロテアーゼと組合せて細胞分散に利用するために有用です。膀胱や耳下腺腺房の分散の他に、コラーゲンの構造解析などにも利用されます。

- 由来: *Clostridium histolyticum*
- 外観: 褐色、結晶性粉末～粉末
- コラゲナーゼ活性: 500units/mg 以上
- カゼイナーゼ活性: 50units/mg 以下
- クロストリパイン活性: 2.00units/mg 以下
- トリプシン活性: 0.25units/mg 以下

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
035-24071	Collagenase, Purified 	細胞分散用	5,000units	16,000
031-24073			25,000units	62,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
038-22361	Collagenase 	細胞分散用	100mg	6,000
034-22363	コラゲナーゼだけでなく種々の加水分解酵素を含む粗製品。相乗効果で細胞分散作用が強い。		1g	25,000
032-22364	コラゲナーゼ活性: 300units/mg (ロット: CTH2111)		5g	92,000
031-17601	Collagenase Type I 	細胞分散用	100mg	5,700
037-17603	コラゲナーゼ、カゼイナーゼ、トリプシンの各活性がバランスよく含まれており、脂肪組織、副腎、上皮組織、肺や肝細胞からの細胞単離に優れる。		500mg	16,000
035-17604	コラゲナーゼ活性: 260units/mg (ロット: CTH2298)		1g	26,500
038-17851	Collagenase Type V 	細胞分散用	100mg	7,900
032-17854	トリプシン活性を抑えているため、膀胱からの細胞分散に優れる。コラゲナーゼ活性: 230units/mg (ロット: CTE6585)		1g	32,000
035-17861	Collagenase Type X 	細胞分散用	100mg	7,900
039-17864	プロテアーゼ活性が高く、骨、心臓、胸腺、唾液腺などの硬組織の細胞分散に優れる。コラゲナーゼ活性: 230units/mg (ロット: SAR0377)		1g	32,000
031-22591	Collagenase Type I, Filtered 	細胞分散用	50mg	8,000
038-23961	コラゲナーゼタイプIのフィルター過品。フィルター処理しているので、溶解後、直接細胞分散に利用できる。コラゲナーゼ活性: 125units/mg 以上			
036-23141	Collagenase, recombinant, Animal-derived-free 	細胞分散用	240,000 units	24,000

 2 ~ 10°C 保存  20°C 保存  80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2015年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

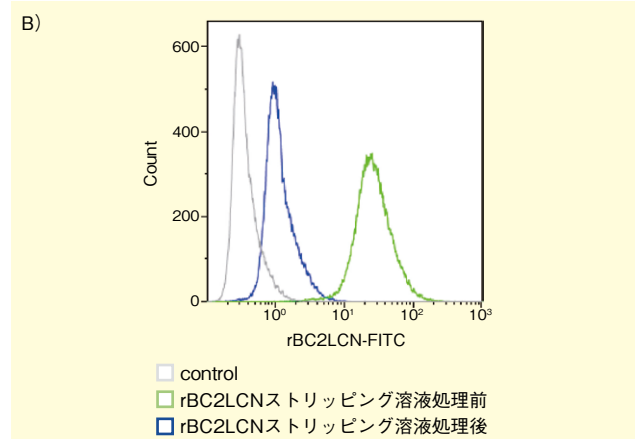
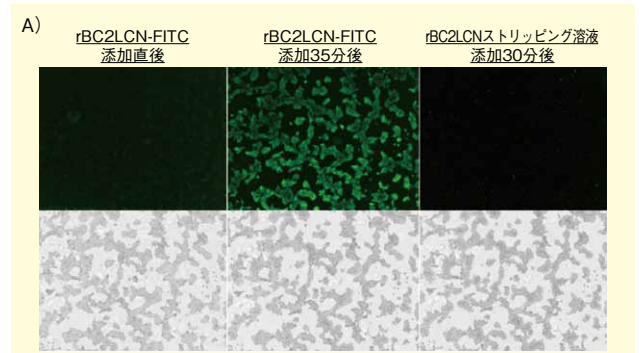
rBC2LCN 剥離溶液 Wako rBC2LCN ストリッピング溶液【AiWashS1】

本品は、ヒト ES 細胞・ヒト iPS 細胞の細胞膜表面に存在する糖鎖と結合した rBC2LCN レクチンを細胞から剥離させることができます。rBC2LCN 剥離後、細胞を他の抗体で染色することや、生細胞の場合は培養を継続することが可能です。

※rBC2LCN は、未分化ヒト ES 細胞・ヒト iPS 細胞の細胞表面に存在する糖鎖に非常に高い特異性を有する組換えレクチンです。

使用例

ヒト iPS 細胞表面に結合した rBC2LCN-FITC の剥離



ヒト iPS 細胞 201B7 株の培養液に 1/100 量の rBC2LCN-FITC を添加し、35 分間染色した。培地除去後、rBC2LCN ストリッピング溶液を添加し、30 分間インキュベートした。

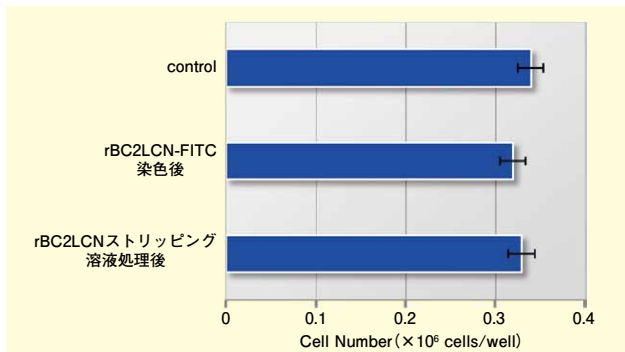
また、rBC2LCN-FITC 添加後の細胞と rBC2LCN ストリッピング溶液添加 30 分後の細胞をフローサイトメトリーに供した。

A) rBC2LCN-FITC 添加によりヒト iPS 細胞は染色されたが、rBC2LCN ストリッピング溶液を添加することで、細胞表面に結合していた rBC2LCN-FITC が剥離された。

B) rBC2LCN-FITC により染色されたヒト iPS 細胞 201B7 株を rBC2LCN ストリッピング溶液で処理し、フローサイトメトリーに供すると、未処理の細胞に比べ処理された細胞のピークが左へシフトした。

[次頁に続く]

■ rBC2LCN ストリッピング溶液処理によるヒト iPS 細胞への影響



細胞株：ヒト iPS 細胞 201B7 株
 培地組成：StemSure® hPSC 培地 Δ [コード No. 197-17571] + 35ng/ml bFGF [コード No. 064-05381]
 コーティング：Matrigel® hESC-Qualified Matrix [コード No. 643-55461]
 播種細胞数：4×10⁴ cells/well (12 ウェルプレートを使用)
 培養日数：5 日

ヒト iPS 細胞 201B7 株を rBC2LCN-FITC で染色した後、rBC2LCN ストリッピング溶液で rBC2LCN-FITC を剥離させた。rBC2LCN-FITC で染色後の細胞と rBC2LCN-FITC による染色後 rBC2LCN ストリッピング溶液で処理した細胞を培養した。rBC2LCN ストリッピング溶液で処理したヒト iPS 細胞も未処理の細胞と同等の細胞増殖を示し、rBC2LCN ストリッピング溶液による処理が細胞増殖に影響を与えないことを確認した。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
182-03171	rBC2LCN Stripping Solution	細胞培養用	10ml	15,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
029-18061	BC2LCN [AiLecS1] Lectin, recombinant, Solution	糖鎖研究用	1mg	30,000
025-18063			1mg×5	照会
180-02991	rBC2LCN-FITC [AiLecS1-FITC]	細胞染色用	100μl	20,000
186-02993			100μl×5	80,000
185-03161	rBC2LCN-635 [AiLecS1-635]	細胞染色用	100μl	30,000
181-03163			100μl×5	120,000

インクレチン GLP-1 を少量サンプルで高感度に測定！ Wako GLP-1 ELISAキットワコー、高感度品

GLP-1 は、腸管 L 細胞から分泌される消化管ホルモンで、糖刺激によるインスリン分泌の増強やグルカゴン分泌抑制を介して血糖値降下作用を示します。新しい糖尿病治療薬として GLP-1 が 2 型糖尿病の治療に有用であるとの報告がされています。

本品は、特異性の高い GLP-1 抗体を用いたマウス、ラット血漿中の GLP-1 を特異的に測定可能な ELISA キットです。従来の製品 (ラット GLP-1 ELISA キットワコー：291-59201) の 10 倍以上の感度を有します。

: 2 ~ 10℃ 保存 : 20℃ 保存 : 80℃ 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
 掲載内容は、2015 年 4 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

特長

- 高感度かつ特異的に GLP-1 が測定可能
- 微量検体で測定可能
- 再現性が高い

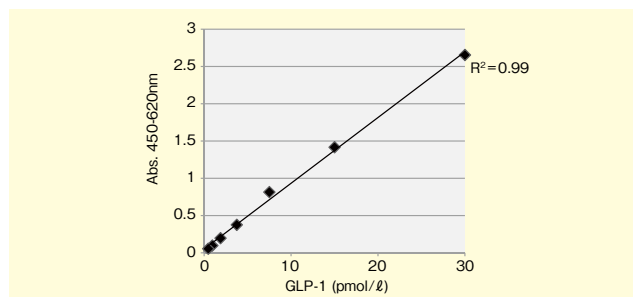
性能

測定範囲	4.7 ~ 150pmol/ℓ**
検量線範囲	0.94 ~ 30pmol/ℓ
必要検体量	10μℓ
測定サンプル	血漿
測定時間	4 時間
種交差性	マウス、ラット
同時再現性	< 10%
日差再現性	< 10%

※ 血液中の阻害物質の影響を避けるため、5 倍希釈での測定を推奨しています。

データ

検量線の一例



測定データ (マウス血漿)

マウス No.	測定値 (pmol/ℓ)	C.V 値	備考
1	31.4	3.1	絶食マウス、8 週齢♂ ※ 15 時間絶食後に採血
2	16.3	2.9	
3	17.2	3.7	
4	20.8	3.1	
5	27.1	0.3	
6	39.6	2.6	糖投与マウス、8 週齢♂ ※ 絶食後、グルコース (2g/kg) を投与し、その 10 分後に採血
7	15.9	4.3	
8	9.4	3.8	
9	8.1	4.4	
10	13.9	1.8	

C.V 値が小さい再現性の高いデータが得られた。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
299-75501	GLP-1 ELISA Kit Wako, High Sensitive	糖尿病研究用	96 回用	75,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
291-59201	Rat GLP-1 ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96 回用	73,000
292-60601	Rat GLP-2 ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96 回用	86,000
295-57401	Rat C-Peptide ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96 回用	78,000
297-57101	Rat Glucagon ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96 回用	78,000
299-73801	Mouse GIP (Active) ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96 回用	86,000
298-65701	LabAssay™ Glucose	細胞生物学用	1,000 回用	26,000
044-31291	DPP4 Inhibitor 1c Hydrochloride	細胞生物学用	5mg	30,000

ピョートル・ペトローヴィチ・フォン・ヴェイマルン (ワイマルン) (1879.7.17-1935.6.2)

東京工業大学 梶 雅範

明治の前半期、日本政府が近代化のために招聘して多くの西洋人専門家が来日した。その後、それほど大挙して西洋人専門家が来日した例はない。ただ、第一次世界大戦によって世界規模で人の移動がもたらされ、1920年代に来日西洋人の小さな波が生じた。その波に乗って来日した西洋人の一人に、コロイド化学者として知られるヴェイマルン(ワイマルン)(図1)がいる。ヴェイマルンに関する日¹⁾、露²⁾の近著を手かがりに、彼が辿った軌跡を見ることにしよう。



図1. Kolloid-Zeitschriftの追悼記(注9)に掲載されたヴェイマルンの写真

1. ヴェイマルンの墓

ヴェイマルンは、現在、妻とともに神戸市立外国人墓地に眠っている。外国人墓地は、六甲山地の再度山(ふたたびさん)山頂の北に位置する再度公園の中にある。著者は今年(2015年)3月に、新神戸駅から道幅が狭く急カーブの連続する道をタクシーで登って、30分弱かけてこの墓地を訪れ、墓地を管理する神戸市建設局公園砂防部森林事務所の職員の方の案内でヴェイマルンの墓をお参りした。墓地は宗教別になっていて、ヴェイマルンの墓は、ギリシア正教(ロシア正教)地区の一角、C3区の8番にあり、夫人の墓は隣の9番にある(図2)。

神戸の外国人墓地は、神戸港(当時は兵庫港)が1868年1月1日に正式に開港する直前の1867年12月25日に当時の生田川(旧生田川)の河口近くの小野浜(現在の中央区浜通付近)に、英米二人の海軍将校が埋葬されたことに始ま



図2. 神戸市立外国人墓地のヴェイマルン(左)と夫人(右)の墓(著者撮影)

る。小野浜墓地は1898年に一杯になったので、翌年閉鎖され春日野(現在の中央区籠池通四丁目)に外国人墓地が設けられた。ヴェイマルンは当初ここに葬られた。1954年5月に春日野墓地が閉鎖されて、同年10月から一年かけて現在の地に移転した³⁾。移転当時、夫人は健在だったが、1965年1月21日に夫人も亡くなり、ヴェイマルンの隣に葬られた。

墓碑銘は、ロシア語のアルファベットで記されているが、革命前の正書法で書かれている(図3)。まずピョートル・ペトローヴィチ・フォン・ヴェイマルンと姓名が記され、続いて四等官(軍人であれば少将にあたり、世襲貴族になれる高官である)と帝政ロシア官吏としての官等が示され、鉱山技師、化学教授(職業というよりもこれも称号と考えた方がよい)とあり、一番下に1879年6月18日ペテルゴフ生まれ、1935年6月2日上海で死去とある。しかし、当時の教会の記録には、「1879年7月5日、近衛騎兵



図3. ヴェイマルンの墓碑銘(著者撮影)

連隊大尉ピョートル・イヴァノヴィチ・ヴェイマルンと彼の正式の妻ユーリヤ・フョードロヴナ(夫妻はともにロシア正教徒)の息子ピョートル」として生まれたとあるという⁴⁾。墓碑銘との違いはどこから来るのか。

ロシア語では、「6月の」(июня)と「7月の」(июля)は字形が似ているので、これは単純に彫り間違いだろう。7月としても日が5日と18日では合わないが、これは暦法の違いからくる。帝政ロシアでは、ユリウス暦が使われていた。ユリウス暦による一年(365.25日)と実際の太陽年(約365.2424日)の差から、紀元前46年にユリウス・カエサルが制定したユリウス暦による春分と実際の春分とのずれは、16世紀には10日に達した。そのため1582年、ローマ教皇グレゴリウス13世が暦を10日進め、さらに100で割り切れて400で割り切れない年を閏年にしないと定めた。これがグレゴリオ暦(西暦)である。しかし、ロシア正教は、このカトリック教会の改暦を採用しなかった。両者の差は18世紀で11日、19世紀で12日、20世紀で13日となる。ヴェイマルンは、ロシア暦(ユリウス暦)の1879年7月5日に生まれたので、西暦では1879年7月17日となる。ところが1935年に亡くなったとき、12日ではなく20世紀のずれの13日を足してしまい、墓碑銘には18日と刻印してしまったと考えられる。ロシアで西暦が採用されたのは、ロシア革命後、1918年1月31日であるので、以下ではそれ以前の日付はロシア暦で示す。

ヴェイマルン家は代々、軍人を輩出した家柄で、父も順調に出世し、退役時には少将であった(化学者になった息子も官等では同じ)。同家はもともとバルト海に面する北ドイツの都市リューベックの出身で、先祖のヨブスト・ワイマルン(Jobst Weymarn, 1641-96)が現在のエストニアのエゼル島(サーレマー島)に移住し、当時同島を支配していたスウェーデンの陸軍に入って大尉になり、スウェーデン貴族に列せられた。スウェー



図4. ヴェイマルン家の紋章(注4)

デンとロシアの長期にわたる北方戦争(1700-21)の結果同島がロシア帝国領になると、ヨプストの子孫たちは、ロシア貴族となり、その多くが主に軍人として活躍した。その姓は、ドイツ人としては、Weymarn ないし Weimarn と綴り、ワイマルンと発音するが、それをそのままロシア語にした Веймарн からロシアでは、その姓はヴェイマルンと読まれる。以下ではロシア流にヴェイマルンと呼ぶことにする。ヴェイマルン家には紋章があった(図4)。斧を持つ獅子で表されて、その獅子が中央の水平線で分けられて、上半分は獅子が金色で背景が黒、下半分は獅子が黒で背景が金色になっている⁵⁾。ヴェイマルンの墓にもこの紋章が彫られている(図5)。

2. ロシアにおけるヴェイマルン

ヴェイマルンは、首都サンクト・ペテルブルグにあるアレクサンドル陸軍幼年学校に入学し、1899年6月15日に卒業した。その卒業証書によれば、トップとは言えないかもしれないが、各科目ともそこそこの成績を取っており⁶⁾、そのまま上級の軍学校に進学すれば、父と同じく軍人としての道を歩んだだろう。

しかし、彼は軍人にはならなかった。1899年、サンクト・ペテルブルグ技術高等専門学校に入学した。理由は不明だが、翌年、申請して同じく首都にある鉱山高等専門学校に再入学した。同校は、1773年に鉱山学校として創立されたもっとも古い専門学校の一つで1866年に高等専



図5. ヴェイマルンの墓にある紋章(著者撮影)

門学校に再編されていた。ヴェイマルンは、同校で、専門だけでなく、数学・自然科学一般、建築関連科目、語学・人文など幅広い教育を受けた。なかでも、同校は、化学関係の教育に力を入れていたと言われていた。

3年生に進級したばかりの1903年10月、サンクト・ペテルブルグに近い軍港クロンシュタット出身のナジェージュダ・ニコラエヴナと結婚した。そのことは結婚許可を求める校長宛の手紙が残っているのでわかることだが、その種の手紙は多く残っており、当時、学生結婚は珍しいことでなかったという⁷⁾。1908年4月に優等の成績で同校を卒業し、その年の秋、物理化学講座の助手に任命された。

同年、審査を通った学位論文「沈殿の形状と構造に対する反応溶液の濃度の影響について」が評価されて、助教授として講義を任された。彼は、硫酸バリウムの生成系を使って、化学反応によって析出する粒子の大きさが濃度によってどのように変化するか詳しく検討した。従来、硫酸バリウムなどのような無機塩は、晶質(クリスタロイド)と呼ばれコロイド(膠質)から区別されていた。しかし、ヴェイマルンは、反応物質の濃度によっては、硫酸バリウムがコロイドになることを示し、コロイドは気体・液体・固体と並ぶ一つの普遍的な状態であると主張した。彼は、すでに1906年に『ロシア物理・化学会誌』(物理化学の雑誌ではなく、ロシア物理学会とロシア化学会の合同学会の雑誌)に次々にこの種の研究

を発表しており、ロシア化学会から物理化学分野の若手研究者に贈られるN. N. ベケートフ賞を受賞していた。

さらに、1907年にドイツのコロイド化学の専門誌 *Kolloid-Zeitschrift* にこの研究の要約を掲載した⁸⁾。同誌を編集し、コロイド化学の研究の中心にいた Wo. オストワルト(Wolfgang Ostwald, 1883-1943)は以後、ヴェイマルンを高く評価し、ヴェイマルンが亡くなったときには、同誌に追悼録を書いた⁹⁾。

このようにヴェイマルンは、コロイド化学者として順調にその研究生生活を滑り出した。1911年には鉱山高等専門学校の員外教授になり、同時に1910-16年にかけてサンクト・ペテルブルグ大学(第一次世界大戦が始まるとペトログラード大学に改称)で「私講師」(Privatdozent 博士号のあと教授資格を取ると得られる職)を務め、そこでロシアで最初期に属する本格的なコロイド化学の講義を行った。彼の不幸は、35歳という研究者としてピークの時期に世界大戦が始まったことだ。

第一次世界大戦がはじまった翌年の1915年春、西シベリアのエカチェリンブルグに開校予定の鉱山高等専門学校の校長のポストが商工省から提案された。彼は逡巡の末、9月1日にウラル鉱山高等専門学校の建設委員長兼校長代理としてエカチェリンブルグに旅立った。予想通り苦労はあったが、同校は1917年10月初めに開校にこぎ着けた。ヴェイマルンには、その功績でエカチェリンブルグの名誉市民号が贈られた。

彼がエカチェリンブルグにいる間に、ロシア革命が勃発してロシア社会は大変動期を迎えた¹⁰⁾。1917年2月末の2月革命によって、帝政が倒れて臨時政府が設立されたが、10月革命でレーニンを指導者とするボリシェヴィキが武力蜂起によって臨時政府を打倒して国家権力を掌握した。しかし、ボリシェヴィキ政権が率いる赤軍と、それに抵抗する国内の白軍や外国の干渉軍との内戦が1920年末まで続いた。

エカチェリンブルグの支配者もこの間

何度も交替した。大戦中に捕虜になりその後のロシアにとどまっていたチェコスロバキア軍団（以下チェコ軍団）が、シベリア経由での帰国途上反乱を起こし、7月25日に彼らが白軍とともにエカチェリンブルグを占領し、8月13日に同市にウラル臨時政府が設立された。こうした中でヴェイマルンが校長を務めるウラル鉱山専門学校は1918年秋、2年目の学年を開始した。しかし、翌年4月末から赤軍の反攻がはじまり、7月には赤軍がエカチェリンブルグを奪還した。鉱山専門学校の教員と学生は、その直前にエカチェリンブルグから東への脱出を図った。ヴェイマルンと何人かの教員はまずオムスクに逃れ、さらに2ヶ月かけてウラジヴォストークまで疎開することができた。

ウラジヴォストークには1917年11月29日（ロシア暦）に10月革命を支持する政権が成立したが、1918年6月29日（以下西暦）駐屯するチェコ軍団が蜂起して政権を打倒した。8月にはチェコ軍団の救出という名目で、アメリカ軍と日本軍を中心とする連合軍が同市に上陸した。1920年1月にアメリカ軍は撤退したが、日本軍は残留した。1920年4月6日、ロシアのソビエト政権は、日本軍との衝突をさけるためにバイカル湖以東に極東共和国という緩衝国家（1922年10月まで存続）を建設した。こうした中で1919年9月にウラジヴォストーク高等工科大学はウラジヴォストーク工科大学と改称され、その鉱山学部が創設され、ヴェイマルンは大学の副学長兼鉱山学部長代理に選ばれた。工科大学の28人の教員のうち、15人がウラル鉱山専門学校の教員だった。1920年4月、工科大学は国立となり、5月にはヴェイマルンが学長に選出された。しかし、同年秋には学長職を同僚に譲り、普通の教授職に戻った。1921年初め、ヴェイマルンは出張の名目で日本に渡り、敦賀から日本に入国した。しかし、彼は出張からは帰らなかった。

3. 日本亡命と日本での活動¹¹⁾

ヴェイマルンは、オストワルト父子

(Friedrich Wilhelm Ostwald, 1853-1932 とその長男の Wolfgang Ostwald) とつながりのある池田菊苗 (1864-1936) を頼って、日本に渡ったのだった。当初、東京の築地に宿を取り、ついで横浜の山手に移って住んだ。4月10日には、第43回東京化学会年会の懇親会に来賓として招待されている。続けて、東京帝国大学 (5月7日-7月12日、毎週2時間)、東北帝国大学 (7月15日-21日、毎日2時間)、京都帝国大学 (9月24日-12月17日、毎週2時間) でそれぞれ「コロイドとクリスタロイドの溶解と沈殿」というテーマでドイツ語の講義を行った。

ドイツでウィルヘルム・オストワルトとネルンスト (Walther Hermann Nernst, 1864-1941) に学んだ京大の大幸勇吉 (1867-1950) が、ヴェイマルンの日本滞在を全面的に援助した¹²⁾。先の講義も、1922年、大幸の尽力で単行本として刊行された。その年の早々、大幸がヴェイマルンに京都帝国大学講師職を斡旋し、大幸が京大を定年退職する1926年まで、ヴェイマルンは週に一度、京大の大幸研を訪れ、学生の研究指導や卒論生の指導をした。

さらに、商工省大阪工業試験所の囑託でもあった大幸は、所長の莊司一太郎に口添えをして、1922年4月ヴェイマルンを試験所の囑託にしてもらった。彼のために試験所内に巨額を投じてコロイド化学の研究室が新築され、海外から研究用に機械や装置、器具、薬品に至るまで輸入された。ヴェイマルンの給与も破格で、当時、所長の年俸が5,000円のところ、18,000円の年俸を得ていたという (図6)。

ヴェイマルンの研究室には、何人も日本人研究者が入所した。他に、ヴェイマルンとともに敦賀から入国し、行動を共にしていた Solgasow という人物がおり、論文の整理をタイプストとして手伝っていたという¹³⁾。外交史料館に、1924年 (大正13) 10月4日付けで「大阪工業試験所技師ペイルマン博士助手露国人セルゲイ、ズロカソーフ」の動向についての記録があり、この助手と同一人物かもしれない¹⁴⁾。この報告に見るように、外国人



図6. 大阪工業試験所でのヴェイマルンと研究室の所員 (注11の重名論文から) 前列左より米田種一、ヴェイマルン、大塚鹿造、後列左より重名潔、片岡重治、堀秀吉 (1924年頃、研究室に所員が最も多かったとき)

の動向が警察によって逐次報告されていた。ヴェイマルンは例外的に優遇されたが、いわゆる「白系ロシア人」は、日本政府からは「過激思想取締」のために一般には警戒される対象であった。重名によれば、1926年に Solgasow はブラジルに去ったという¹⁵⁾。

1924年からヴェイマルンが退所するまでの6年間と、彼の下でもっとも長く研究したのが、後年、師の回想録を書いた重名潔 (じゅうな・きよし) である。ヴェイマルンの研究室運営は、必ずしも順調ではなかった。「試験所の先生は研究と論文作成に集中されて、研究員の指導は各員任せの感があった。言葉の問題と習慣の相違もあって、先生の偉大さを把握することなく、1926年に入ると5人の研究者は次々と退所」したと重名は書いている。1926年には重名一人となり、去った Solgasow のかわりにヴェイマルン夫人がタイプストとして研究所に来るようになった。同年秋に、のちに追悼録を書いた岩瀬栄一が入所し、1929年 (昭和4) 4月まで金コロイドの研究を行ったという。

ヴェイマルンは、1920年代の後半か

ら、次第に元気を失い病気がちになった。その病が何であったかは、詳細は不明である。しかし、重名の回想に、ヴェイマルンが「Nieren Krankheit (腎臓の病)」と述べたということがあるので、腎臓疾患だったのかもしれない。

1931年3月、病が進んだヴェイマルンは試験所を辞め、自宅で静養に専念することになった。自宅について、重名は、「大池に面し柳の並木のある夙川の家」と描写している。1924年(大正13)に西宮市の夙川(しゅくがわ)駅から甲陽園まで行く甲陽線が開通しており、甲陽園の近くには大池という池があるから¹⁶⁾、高級邸街として知られる甲陽園の近くに夫妻は住んでいたのかもしれない。健康回復後も、試験所に復帰することはなく、自宅に実験室を設けて研究を続けた。

1933年(昭和8)11月25日には、学位を取得して25年を記念する祝賀会が日本の友人や弟子達によって1928年に大阪の北浜に本格的な西洋レストランとしてオープンした「アラスカ」で開催された。しかし、1934年2月に病気が再発し、神戸県立病院に入院しなければならなくなった。意志の疎通が十分かわず、ロシア語の通じる病院ということで、その年の暮れか年明け早々に、上海の白系ロシア人の病院に移ったが、回復かなわず6月2日に逝去した(図1)。遺体は神戸に戻されて、春日野の外国人墓地に埋葬された。弟子の回想ではこの埋葬日を6月11日としているが¹⁷⁾、外国人墓地の事務所には、この墓が現在の地に移転されるときになされたと思われる(昭和34年10月15日付)役所の調査に対する夫人による英語の回答メモが残っており、そこには夫の埋葬日が1935年6月12日とされている。実際の埋葬日は12日だったのかもしれない。夫人の戦後の住所は西宮市ではなく、神戸市中山手通57になっている。

なお、ヴェイマルン夫人は、夫の隣(C3区9)に葬られた。墓碑銘はロシア語であるが、すでに夫とは違い革命後の正書法で書かれている(図7)。没年月



図7. ヴェイマルン夫人の墓碑銘(著者撮影)

日は1964年1月21日になっており、ロシアで出された伝記的な記述でも夫人の没年は1964年になっている。また墓碑銘に生年月日の記載がなく、クロンシュタットで生まれたとだけある。しかし、墓地を管理する事務所には、「死体埋葬許可書」のコピーがあり、死亡年月日が昭和40年1月21日午後0時35分となっている。神戸市灘区長名での許可日が昭和40年1月22日で、1月23日に「土埋」したとしているから、墓碑銘の没年は誤りで、正しい没年月日は1965年1月21日であろう。この許可書には、生年月日1888年8月5日(おそらく西暦)と記載されている。そうであれば、夫人は逝去時満76歳であり、ヴェイマルンとの結婚はまだ15歳のことになる。

4. ヴェイマルンの業績と日本との関係

ヴェイマルンは、コロイドの化学を、分散系の化学(Die Dispersoidchemie)として展開しようと考えたが、エカチェリンブルグでの新校の建設、ロシア革命による疎開・亡命で果たすことができなかった。

来日してからのヴェイマルンの仕事は、(1)セルロースの濃厚塩水溶液、析出とその応用、(2)絹フィブロインの濃厚塩水溶液、析出とその応用、(3)金コロイドの研究、(4)コロイドの安定性—吸着と分散、(5)レオペクシー(攪拌などで力を加えることで粘度が上がる現象)の研究、(6)その他と多方面にわたったが¹⁸⁾、日本のコロイド化学に大きな影響を与えるには、日本人研究者との意志の疎通が十分でなく時間も足りな

かった。工業試験所での研究は短く、長く見積もって9年、その後半は病気がちだったので、ほんとうに活動できたのはほんの数年であった。

結局、ヴェイマルンが真に創造的な研究ができたのは、学生時代を含めても15年程度で、世界大戦と革命が彼の創造的な科学活動の十分な展開を許さなかった。

ロシア革命によって余儀なくされた日本滞在であったヴェイマルンの目は欧米を向いており、言語的にも知的にも日本人化学者との交流は限られたものになった。それでも、ヴェイマルンの来日と日本での活動は、自然科学上におけるロシアと日本の間の本格的な学術交流の希有の例として注目に値する。

【参考文献】

- 1) 北原文雄:「ロシアからの移住化学者ワイマルン—その生涯と業績—」, 化学史研究, **41**, 121-130 (2014).
- 2) Н.В.Хисамутдинова, Энергетика культуры Петра Веймарна [ピョートル・ヴェイマルンの文化エネルギー論], Владивосток: Издательство ВГУЭС, (2013).
- 3) ボダルコ・ピョートル・E:「神戸とロシア人—関西在留白系ロシア人の研究をめぐって—」, スラヴィアーナ, **13**, 3-16 (1998) から12頁。
- 4) 前掲注2, 9頁。
- 5) <https://ru.wikipedia.org/wiki/Веймарны> ウィキペディア(ロシア語)からヴェイマルン家 2015年3月15日閲覧。
- 6) 前掲注2), 8頁。
- 7) 前掲注2), 11頁。
- 8) P.P. von Weimarn: "Zur Lehre von den kolloiden, amorphen und kristallinen Zuständen", *Kolloid-Zeitschrift*, **2** (3), 76-83 (1907).
- 9) Wo.O.[Wolfgang Ostwald]: "P.P.von Weimarn, 1879-1935", *Kolloid-Zeitschrift*, **74** (1), 1-10 (1936).
- 10) 田中陽児, 倉持俊一, 和田春樹編:「世界史大系 ロシア史3」(山川出版社) p. 26-92 (1997).
- 11) 岩瀬榮一:「Weimarn先生を憶ふ」, 科学, **5**, 351-353 (1935) および重名潔:「Prof. P.P.von Weimarnの追憶」, 表面 **15** (10), 636-647 (1977) を参照。
- 12) 大幸甫:「父大幸勇吉の思出」, 化学の領域 **4** (11), 50-51 (1950) から51頁。
- 13) 前掲注11), 重名, 638頁。
- 14) 外交史料館, 4門(司法及び警察), 3類(危険思想取締), 1項(要視察人及団体) 2-6 露国人乃部 大正13年10月4日「露国人帰来ノ件」。
- 15) 前掲注11), 重名, 638頁。
- 16) <http://ja.wikipedia.org/wiki/甲陽園> 2015年3月16日閲覧。
- 17) 前掲注11), 岩瀬, 353頁; 重名, 638頁。
- 18) 前掲注1), 124-125頁。

quantitative NMR



定量NMR 用標準液

定量NMR法は、標準物質を基準として測定対象物質（サンプル）の純度または濃度を評価する方法です。これまでの定量NMR用標準物質に加えて、内標準法に使用できる定量NMR用標準液をラインアップしました。

特長

- 定量NMR法による純度保証
- 標準物質の精密な秤量が不要
- 信頼性の証である不確かさを付与
- 外標準法の標準物質として使用可能

溶液法概略¹⁾



【参考文献】

1) 山崎太一 他: 分析化学, 63, 323 (2014).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
041-33641	DSS-d ₆ Standard Solution (500mg/l Deuterium Oxide Solution) Ref	定量 NMR 用	1ml × 5A	18,000
085-10161	Hexamethyldisilane Standard Solution (500mg/l Methanol-d ₄ Solution) Ref 包	定量 NMR 用	1ml × 5A	照会

関連商品

標準物質

(独) 産業技術総合研究所計量標準総合センター (NMIJ) によって国際単位系 (SI) にトレーサブルな測定方法で値付けした純度 (不確かさを含む) に、当社で均質性評価及び安定性評価などから得た不確かさを加えて標準物質の特性値を決定し、認証書付きの標準物質として供給しています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
024-17031	1,4-BTMSB-d ₄ Reference Material Ref	TraceSure [®]	50mg	30,000
020-17033			50mg × 4	75,000
044-31671	DSS-d ₆ Reference Material Ref	TraceSure [®]	50mg	30,000
040-31673			50mg × 4	75,000
048-33271	Dimethyl Sulfone Reference Material Ref	TraceSure [®]	100mg	15,000
135-17951	Maleic Acid Reference Material Ref	TraceSure [®]	100mg	15,000
093-06731	4 Internal Standard Set for Quantitative NMR Ref 【内容】1,4-BTMSB-d ₄ (50mg×1), DSS-d ₆ (50mg×1), ジメチルスルホン(100mg×1), マレイン酸(100mg×1)	定量 NMR 用	1 セット	55,000

Ref... 2 ~ 10℃保存 F... -20℃保存 S80... 80℃保存 表示がない場合は室温保存です。
 特定 毒物 劇物 毒薬 劇薬 危険物 向精神薬 特定麻薬向精神薬原料
 化審法 第一種特定化学物質 化審法 第二種特定化学物質 化武1... 化学兵器禁止法 第一種指定物質 化武2... 化学兵器禁止法 第二種指定物質 カルタヘナ法
 覚せい剤取締法 国民保護法 フォオキシ... ダイオキシン類
 掲載内容は、2015年4月時点での情報です。上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

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. 83 No. 2

2015年4月15日発行

発行責任者 上田 衡

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

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

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

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