

OX2R 作動薬と OX2R のドッキングシミュレーション

〔総説〕

「睡眠覚醒を制御する世界初の分子：オレキシン 2 受容体作動薬 YNT-185 の創製」

斉藤 毅、長瀬 博…………… 2

「ncRNA の機能解析～結合タンパク質を求めて～」

足達 俊吾…………… 8

「リパーゼの特徴と有効性について」

佐藤 幸秀…………… 11

〈テクニカルレポート〉

「最近のミクログリア研究の動向と新しい標識 Iba1 抗体」

佐柳 友規…………… 6

〔化学大家〕

「アレクサンドル・ポルフィリエビチ・ポロディン」

桜井 弘…………… 28

〔製品紹介〕

有機合成

アマノリパーゼ…………… 13

V-MPS4…………… 14

nor-AZADO…………… 15

RAFT 剤…………… 16

環境・分析

ポジティブリスト関連 農薬標準品…………… 18

シリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレートワーク…………… 18

培 養

bFGF 溶液, MF…………… 17

SB431542, MF…………… 17

神経細胞関連試薬…………… 32

免 疫

抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合、抗 Iba1, ウサギ,
赤色蛍光標識 (635) 結合…………… 7

細胞生物

YNT-185・2HCl…………… 5

リシルエンドペプチダーゼ[®] 溶液…………… 19

抗がん剤有効成分化合物…………… 20

TRPV4 アンタゴニスト HC-067047…………… 21

オセルタミビルリン酸塩…………… 21

タウタンパク質, ヒト, 組換え体…………… 22

抗タウ抗体シリーズ…………… 22

Block-Pro[™] 5×ブロッキングバッファー, プロテインフリー…………… 24

コンドロイチン硫酸 B ナトリウム, ブタ皮膚由来…………… 25

遺 伝 子

MagCapture[™] シリーズ…………… 10

pCAG-Fc (Fc 融合タンパク質発現ベクター)…………… 26

核酸染色液 SAFELOOK[™] シリーズ…………… 27

そ の 他

乾燥用 青色シリカゲル…………… 14

〔お知らせ〕

医薬品成分化合物シリーズ① がん研究用試薬 バンフレットのご紹介…………… 20

医薬品成分化合物シリーズ③ 試験研究用 神経系作用剤 バンフレット発行のご案内…………… 23

Phos-tag[®] SDS-PAGE ガイドブック 第 4 版 発行のご案内…………… 25

はじめに

オレキシンは、1998年に柳沢、櫻井らによりオーファンGタンパク質共役型受容体（G-protein coupled receptor, GPCR）の内因性リガンドとして、同定された神経ペプチドである¹⁾。オレキシンを産生する神経細胞（オレキシン産生細胞）は、脳内視床下部外側野に特異的に存在し、オレキシンの脳室内投与と実験において摂食量を増加させる作用があることから、発見当初は摂食行動を制御する神経ペプチドであると考えられていた。しかし、その後の遺伝学的研究から、オレキシン産生細胞を欠損させることで神経疾患であるナルコレプシーが発症することが明らかとなり、オレキシンは睡眠覚醒の制御に重要な役割を果たしていることが判明した²⁾。オレキシンには、オレキシンAとBの2種類が存在し、オレキシンAはオレキシン1受容体(OX1R)とオレキシン2受容体(OX2R)に結合する。一方、オレキシンBはOX2Rに結合する。OX1R、OX2RともにGタンパク質のサブクラスのうちGqタンパク質に共役している³⁾。

オレキシンの発見以降、オレキシン系の興味深い生理作用から、オレキシン受容体を標的とする創薬研究が盛んに行われるようになった^{4a-c)}。特にオレキシンシグナルは覚醒を司ることから、オレキシン受容体アンタゴニストが睡眠薬として有用であると期待され、これまでに様々な構造を有するオレキシン受容体選択的、非選択的アンタゴニストが数多く見出されてきた(図1)^{4b, c)}。2014年には米国メルク社が見出した *suvorexant*⁵⁾ が睡眠導入薬(商品名：ベルソムラ)として日本にて承認され、販売に至っている。また、最近OX1Rがアルコールやコカイン、モルヒネなどの依存形成に深く関与していることが相次いで報告され、OX1R選択的アンタゴニストは依

存症治療薬としても期待が持たれている⁶⁾。

オレキシン系は睡眠覚醒を調節するだけでなく、情動やエネルギーバランスに応じ、摂食行動も適切に制御している^{6, 7)}。また、OX2Rはレプチン感受性を向上させることにより、体重の恒常性にも関与する⁸⁾。これらのことから、オレキシン受容体アゴニストは糖尿病、肥満およびメタボリックシンドロームなどの生活習慣病の治療薬として期待されている。しかしながら、オレキシン受容体アゴニストとしては、改変型ペプチドである [Ala¹¹, D-Leu¹⁵]-orexin B⁹⁾ と SB-668875¹⁰⁾ がOX2R選択的アゴニストとして報告があるのみであり、非ペプチド性アゴニストについては特許¹¹⁾を含め十分な活性、選択性を示すものはなく、その薬物としてのポテンシャルは明らかになっていない。そのため、OX1R、OX2R共に薬理作用が十分解明されたと言うことはできない。

オレキシンとナルコレプシー

オレキシンが最も密に関与する疾患としてナルコレプシーがある。ナルコレプシーは、正常な睡眠覚醒パターンが維持できず、睡眠覚醒のステージが

頻繁に移り変わる難治性の睡眠障害であり¹²⁾、日中の耐え難い眠気(睡眠発作)、情動脱力発作(カタプレキシー)、入眠時幻覚、睡眠麻痺を主症状とする。日本での有病率は600人に1人(0.16%)であり、決して稀な疾患ではない。疫学的な知見としては、ヒトナルコレプシー患者の9割で脳内オレキシン量の減少が見られており、ナルコレプシーはオレキシン欠乏により発症すると考えられている^{13, 14)}。これまでのマウスを用いた遺伝学的実験においては、OX1R欠損マウスではナルコレプシー症状は見られないのに対し、OX2R欠損マウスではその症状を発症することから、ナルコレプシーの発症にはOX2Rが介するシグナルが重要であることが示唆されている¹⁵⁾。また、オレキシン欠損マウスや後天的にオレキシンを欠損させたマウスでは、オレキシンの脳室内投与によりナルコレプシー症状が改善することが報告されている¹⁶⁾。

本稿では、ナルコレプシーをはじめとするオレキシンの関与する疾患の治療薬の創製を目指した、非ペプチド性オレキシン受容体アゴニスト、特にOX2R選択的アゴニストの創薬研究ならびにその薬理作用について紹介する¹⁷⁾。

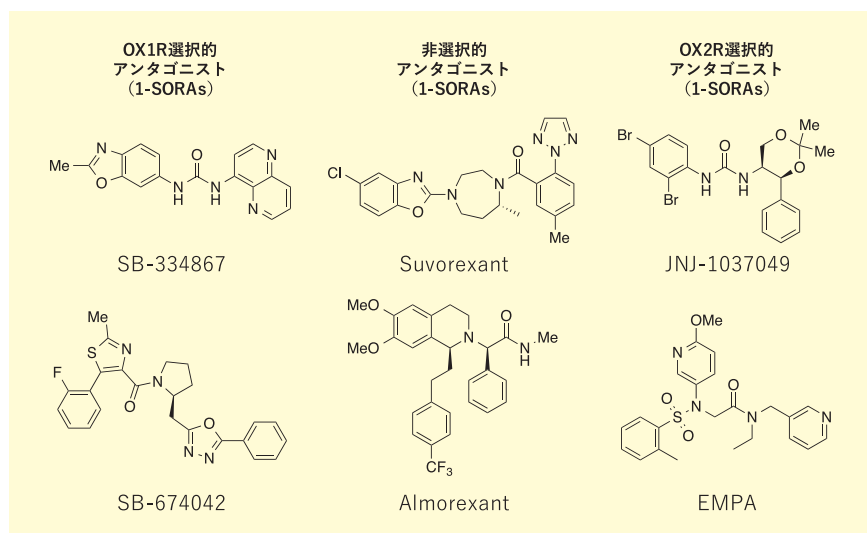


図1. オレキシン受容体アンタゴニストの化学構造式

YNT-185 の発見

オレキシン受容体を標的としたアゴニストのハイスループットスクリーニング (HTS) は、共同研究者の柳沢らによりテキサス大学サウスウエスタン校所有の化合物ライブラリーを用いて実施された。オレキシン受容体は、主に Gq タンパク質に共役することから、カルシウムイオンを指標とする評価系を用いた。その結果、アリアルスルホンアミド構造を有する2つの HTS ヒット化合物 **1**, **2** を見出した (図2)。化合物 **1** および **2** の活性は、OXA の活性を 100% とした際、レポーターアッセイでそれぞれ 36%、43% であったが、カルシウムアッセイでは活性を確認することは出来なかった。また、これらの HTS ヒット化合物は加水分解性を有する問題があった。しかし、スルホンアミドは、カルボキシアミドとは異なりアミド結合の回転自由度が高く、受容体とのファーマコフォア結合の確率が向上する可能性が高いため、化合物 **1** および **2** のアリアルスルホンアミド構造を基盤として、作動活性と安定性の向上を目指した Hit to

Lead 研究を展開した。

これまでに、多くの研究グループにより数多くのアンタゴニストが創製されてきたが、未だアゴニストの創製には至っていない。その理由として、多くのアンタゴニストの構造がオレキシン A, B の共通必須アミノ酸配列に比較して極端に小さいことに注目した。そこで我々は、アゴニストの構造を、既存のアンタゴニストより大きくする創薬アプローチを採用した。この仮説に立ち、種々の誘導体の設計・合成を行った結果、OX2R 選択的に完全作動活性を示す **YN-1055** を見出した ($EC_{50} = 23 \text{ nM}$ for OX2R, $E_{max} = 98\%$)。しかし、**YN-1055** は *in vitro* において十分な活性を示したものの、水への溶解性が極めて低く、またその塩も難溶性であったことから、*in vivo* での薬効試験は困難であった。そこで、水溶性を促進する置換基の導入を試みたところ、*m* 位に *N, N*-ジメチルアミノ基を導入した **YNT-185** が、**YN-1055** と同等の活性、受容体選択性を示すことを見出した ($EC_{50} = 28 \text{ nM}$ for OX2R, $E_{max} = 100\%$)。YNT-185 は、塩酸を2当量用いて塩化することで2塩酸塩 (**YNT-185**·2HCl) を形成し、高い水

溶性を示した。**YNT-185**·2HCl は生理食塩水にも 1.3 M という高濃度で溶解し、その至適 pH は 2.3 であり、浸透圧は 350 Osm であった。

OX2R アゴニストと OX2R のドッキングシミュレーション

我々の OX2R アゴニストの発見と時を同じくして、OX2R と非選択的オレキシン受容体アンタゴニスト **suvorexant** との X 線結晶構造解析の結果が報告された¹⁸⁾。そこで、最も強力な活性を示した **YN-1055** について、ドッキングシミュレーションを実施した。

Suvorexant は、受容体活性化に必要な TM5 と TM6 の内向きの構造変化を馬蹄形に張り出したジアゼパン部位が妨げることで拮抗作用を発現していると考えられる (図3)。一方で、我々のシミュレーションでは、**YN-1055** はスルホンアミド構造のねじれ角を利用し、**suvorexant** のジアゼパン部位が占有していた領域を避けるように配置していることがわかった。一般に GPCR の作動には TM5 と TM6 の内向きの構造変化が必要であることが知

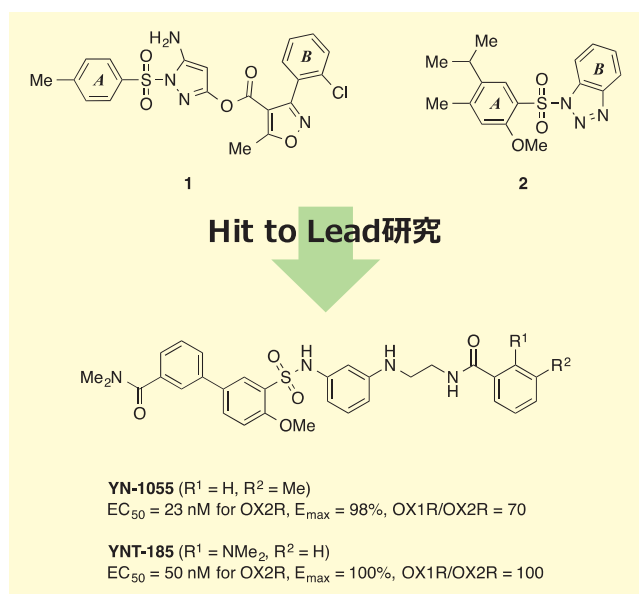


図2. HTS ヒット化合物 **1**, **2** と **YN-1055**, **YNT-185** の構造

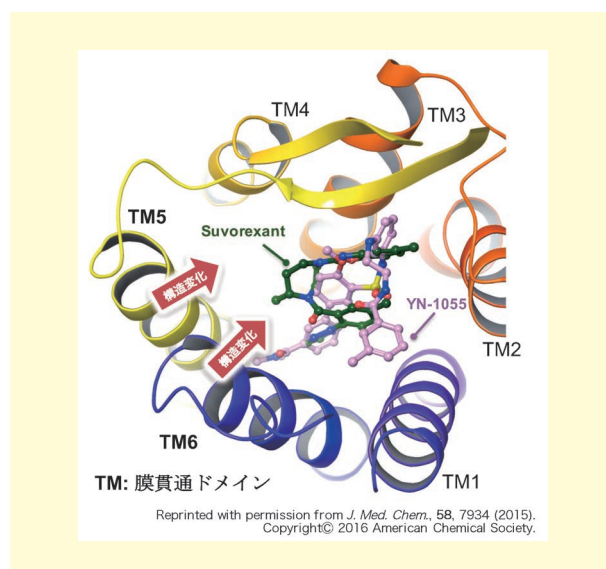


図3. Suvorexant と **YN-1055**, OX2R のドッキングシミュレーション

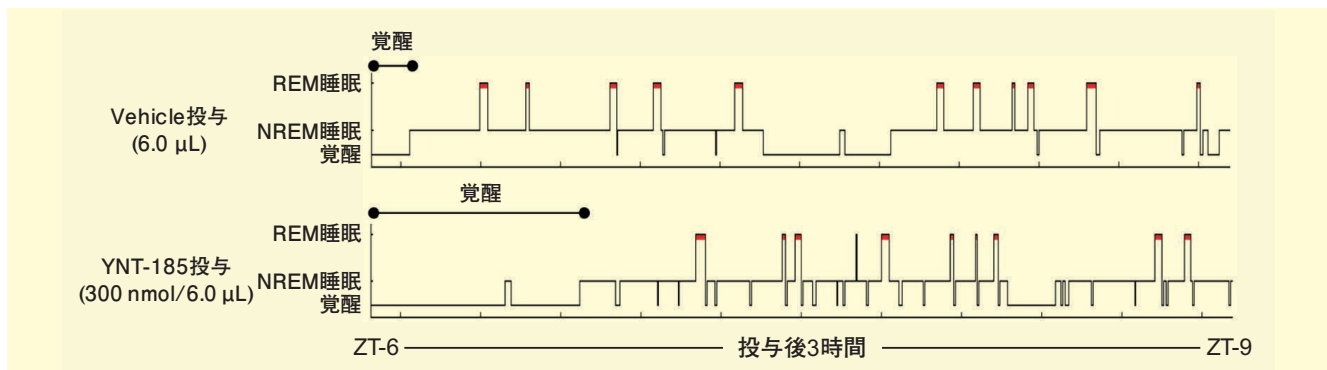


図4. YNT-185 の icv. 投与時のヒプノグラム

られており、YN-1055 と受容体とのシミュレーションでは TM5 と TM6 の内向きの構造変化を受け入れられる相互作用様式であることがわかる。この差により我々の分子デザインした化合物は作動活性を誘導しているものと考えられる^{17, 19)}。なお、興味深いことに、YN-1055 のスルホンアミド基をカルボキシアミド基に置換した化合物ではほとんど OX2R に活性を示さなかった。この事実は、スルホンアミドを重要官能基として選択した我々の分子設計が正しかったことを示している。

YNT-185 の *in vivo* 薬理作用

上記水溶性アゴニスト YNT-185·2HCl を用い、マウスを用いた *in vivo* 薬理評価を行った。薬液は、生理食塩水に溶解した YNT-185·2HCl を用い、vehicle としては塩酸性生理食塩水を用いた。オレキシンは前述のように、睡眠覚醒の制御に関与しており、本稿では薬物投与が覚醒に与える影響について紹介する。明期中盤 (ZT-6)、睡眠中の野生型マウスの脳室内に YNT-185·2HCl (300 nmol/6.0 μL) を脳室内 (icv.) 投与し、その後3時間の睡眠時間に与える影響について観察した (図4)。Vehicle を投与したマウスは、脳波および筋電図に変化はほとんど見られず、睡眠を継続していたが、YNT-185 を投与したマウスでは投与後速やかに覚醒が誘導され、そ

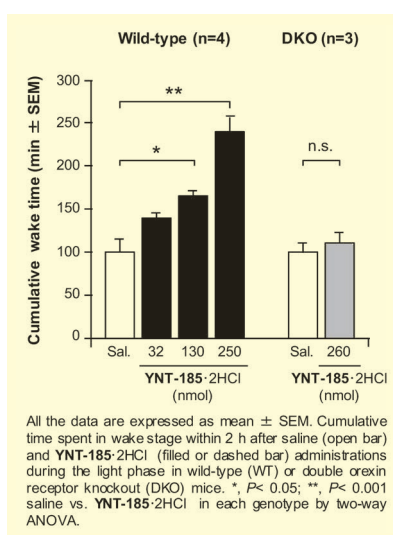


図5. YNT-185·2HCl 脳室内投与が覚醒に与える影響 (『MEDCHEM NEWS 26 巻 No.2 90-96 頁』より転載)

の後一時間程度覚醒を維持していた。また、YNT-185 により誘導される覚醒時間は濃度依存的に延長することが確認された (図5)。一方で、オレキシン受容体を欠損させたマウスでは、アゴニスト投与による覚醒時間の延長は見られなかった。

YNT-185 は icv. 投与で奏功を示したため、続いて本化合物の腹腔内 (ip.) 投与下での薬効を確認した。その結果、icv. 投与実験と同様に、vehicle 投与では覚醒時間の延長は見られなかったのに対し、薬液投与下では 40, 60 mg/kg において優位に覚醒時間が延長された (図6)。また、受容体欠損マウスではその作用は見られなかつ

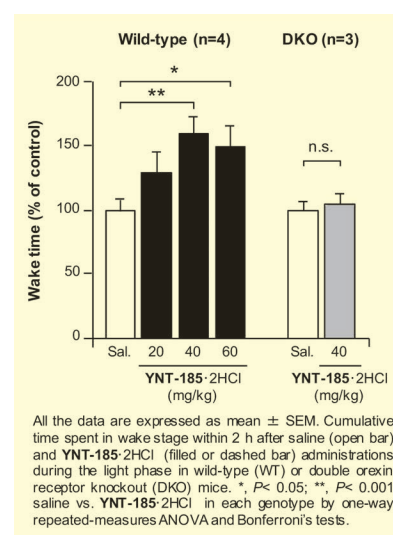


図6. YNT-185·2HCl 腹腔内投与が覚醒に与える影響 (『MEDCHEM NEWS 26 巻 No.2 90-96 頁』より転載)

た。これらの結果から、YNT-185 は確かにオレキシン受容体を介して覚醒を誘導、維持しており、腹腔内投与で活性を示したことから血液脳関門透過性を有することが強く支持された。

最後に

我々は睡眠覚醒を制御するオレキシン受容体を標的とした創薬研究を通して、世界に先駆け *in vivo* で効果を示す水溶性で血液脳関門透過性を有する OX2R 選択的アゴニスト YNT-185·2HCl を見出した。また、本稿では紹介できなかったが、YNT-185 は共同研究者の柳沢らにより、ナルコレプ

シーモデルマウスでもその症状を劇的に改善する結果を得ている。今後、オレキシンの関連する疾患の治療薬開発ならびにオレキシン受容体の薬理学研究において重要な化合物となると期待している。

謝 辞

本稿で紹介した研究成果は、最先端研究開発支援プログラム (FIRST) に端を発し、世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI) の重要研究課題として、多くの合成化学者と薬理学者との共同研究の末、成し得たものである。また、計算科学については昭和

学薬学部 合田浩明教授にご協力いただいた。柳沢正史教授をはじめ、プロジェクトメンバーの皆様に心から感謝いたします。

【参考文献】

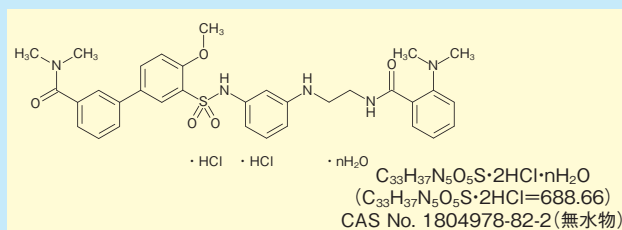
- 1) Sakurai, T. *et al.* : *Cell*, **92**, 573 (1998).
- 2) Chemelli, R. M. *et al.* : *Cell*, **98**, 437 (1999).
- 3) Zhu, Y. *et al.* : *J. Pharmacol. Sci.*, **92**, 259 (2003).
- 4) a) Boss, C. *et al.* : *J. Med. Chem.*, **52**, 891 (2009)., b) Lebold, T. P. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **23**, 4761 (2013)., c) Boss, C. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **25**, 2875 (2015).
- 5) Cox, C. D. *et al.* : *J. Med. Chem.* **53**, 5320 (2010).
- 6) Sakurai, T. : *Nat. Rev. Neurosci.* **15**, 719 (2014).
- 7) Yamanaka, A. *et al.* : *Neuron*, **38**, 701 (2003).
- 8) Funato, H. *et al.* : *Cell Metab.*, **9**, 64 (2009).
- 9) Asahi, S. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 111 (2003).
- 10) Soffin, E. M. *et al.* : *Neuropharmacology*, **46**, 1168 (2004).
- 11) Yanagisawa, M. : US 8871794.
- 12) American Psychiatric Association : "American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, 5th ed." Amer psychiatric Pub. (2013).
- 13) Nishino, S. *et al.* : *Lancet*, **355**, 39 (2000).
- 14) Kubota, H. *et al.* : *Sleep*, **26**, 555 (2003).
- 15) Willie, J. T. *et al.* : *Neuron*, **38**, 715 (2003).
- 16) Mieda, M. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **101**, 4649 (2004).
- 17) a) Nagahara, T., *et al.* : *J. Med. Chem.*, **58**, 7931 (2015)., b) Saitoh, T. *et al.* : *Medchem News*, **26**, 90 (2016).
- 18) Yin, J. *et al.* : *Nature*, **519**, 247 (2015).
- 19) Heifetz, A. *et al.* : *J. Med. Chem.*, **58**, 7928 (2015).

非ペプチド性オレキシン2受容体アゴニスト



YNT-185・2HCl

- 外観：白色～わずかにうすい褐色、結晶性粉末～粉末
- 含量 (HPLC)：98.0%以上
- 溶解性：生理食塩水 (pH 2.4) …1.3mol/ℓ¹⁾
- EC₅₀：OX₂R …0.028 μmol/ℓ (free base)¹⁾
OX₁R …2.750 μmol/ℓ (free base)¹⁾



【参考文献】

- 1) Nagahara, T., Saitoh, T., Kutsumura, N., Irukayama-Tomobe, Y., Ogawa, Y., Kuroda, D., Gouda, H., Kumagai, H., Fujii, H., Yanagisawa, M. and Nagase, H. : *J. Med. Chem.*, **58**, 7931 (2015).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
254-00641	YNT-185 Dihydrochloride Hydrate [F°]	細胞生物学用	5mg	14,000
250-00643			100mg	140,000

関連商品

コード No.	メーカーコード	品 名	規格・メーカー	容量	希望納入価格(円)
オレキシン受容体アゴニスト					
013-24771	-	[Ala ¹¹ , D-Leu ¹⁵]-Orexin B [F°]	細胞生物学用	1mg	53,000
194-17221	-	SB-668875 [F°]	細胞生物学用	1mg	65,000
オレキシン					
159-03161	-	Orexin A (Human) [F°]	細胞生物学用	0.1mg	20,000
156-03171	-	Orexin B (Human) [F°]	細胞生物学用	0.1mg	14,500
153-03181	-	Orexin B (Rat, Mouse) [F°]	細胞生物学用	0.1mg	14,500

コード No.	メーカーコード	品 名	規格・メーカー	容量	希望納入価格(円)
オレキシン受容体アンタゴニスト					
-	4558/10	EMPA [F°]	Tocris	10mg	57,000
-	4558/50			50mg	262,000
104-00171	-	JNJ 10397049 [Ref°]	細胞生物学用	10mg	25,000
100-00173	-			50mg	99,000
108-00174	-			250mg	370,000
585-82244	1960/1	SB 334867	Tocris	1mg	24,000
581-82241	1960/10			10mg	50,000
587-82243	1960/50			50mg	244,000
192-17761	-			5mg	23,000
198-17763	-	SB-674042 [F°]	細胞生物学用	25mg	90,000

Ref°…2～10℃保存 [F°]…-20℃保存 [F°]…-80℃保存 [F°]…-150℃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、2016年7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。

最近のミクログリア研究の動向と新しい標識 Iba1 抗体

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 微細構造研究部 佐柳 友規

はじめに

中枢神経系は神経細胞とグリア系細胞から構成される。グリア系細胞は、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアに大別され、なかでもミクログリアは脳内免疫担当細胞として脳病態・損傷時における神経障害をいち早く感知して活性化される。活性化に伴いミクログリアはその数や形態を大きく変化させ、障害部位への遊走、死細胞の貪食、炎症性サイトカインなどの産生増加など様々な機能を発揮することから、種々の中枢神経系疾患への関与が示唆されている。ミクログリアは活性化されたときの形態や機能の変化が顕著であるため病態脳・損傷脳における役割が注目されてきたが、近年の *in vivo* イメージング技術の進展により正常脳における役割も明らかになりつつある。ミクログリアが細く分岐した突起を頻繁に動かしている様子や、ニューロンのシナプスに触れる様子が観察され、静止型ミクログリアも脳内で活発に活動することが報告された^{1,2)}。大脳皮質の発達過程では、シナプスの過剰な形成とその後の除去によりシナプス数が適切に維持されているが、ミクログリアによるシナプスへの接触は、シナプスの形成と除去のどちらにも関与する可能性が報告されている^{3,4)}。本稿では、ミクログリアの役割について近年注目されている精神疾患への関与に焦点をあてて述べる。また、ミクログリアのマーカー分子である Iba1 抗体を用いた免疫組織染色例を紹介する。

ミクログリアと精神疾患

近年、精神疾患患者の急速な増加が報告されている。これらの疾患患者は社会生活が困難になる場合が多く、病態解明と早期診断・治療法の開発が急がれている。自閉症スペクトラム障害 (ASD) を含む発達障害や統合失調症は、脳発達過程における神経回路形成の異常や神経機能維持機構の破綻がその病因の一つであると考えられてい

る。ヒトを含む霊長類では、新生児期からシナプス数が急速に増大し小児期にピークに達する。この過剰に作られたシナプスは、青年期を経て成人となる過程で“刈り込み”により減少し、成熟脳へと発達する。自閉症ではシナプス形成に比べて刈り込みが少なく、一方、統合失調症では刈り込み過剰が報告されており、生後発達過程におけるシナプス数変動パターンの異常がその病態発現に関与することが示唆されている。自閉症や統合失調症患者の脳内でミクログリアの増加や炎症関連遺伝子の発現増加が報告された (図1)^{5,8)}。ミクログリアの活性化を抑制するミノサイクリン投与により患者の症状が改善されることが報告されていることから^{9,10)}、これらの疾患の病態発現にミクログリアを介した神経回路形成及び機能維持機構の異常が関与している可能性が考えられる。

我々の研究グループでは、コモンマーモセットという小型霊長類に注目し研究を行っている。マーモセットは家族で生活し、育児の分担、社会的行動、コミュニケーションなどの様々な行動を観察することができるため、ヒ

トの社会的脳機能の理解のために有用な実験動物であると考えられる。また薬物代謝経路、生理学的・解剖学的特徴、発現遺伝子などがヒトと類似しており、さらに大脳皮質発達過程におけるシナプス数変動パターンがヒトと類似していることから¹¹⁾、霊長類の機能的神経回路形成を理解するために有用な実験動物であると考えられる。我々はマーモセットの胎生期にバルプロ酸を暴露することで、自閉症様モデルマーモセットを作製した^{12,13)}。このモデルマーモセットを用いて自閉症病態におけるミクログリアの役割を理解することは、将来的に自閉症を含めた精神疾患の病態理解・治療法開発につながるものと期待している。

Iba1 抗体を用いた免疫組織染色 ～齧歯類から霊長類まで～

Iba1 (Ionized calcium binding adapter molecule 1) は、中枢神経系ではミクログリアに特異的に発現する約 17kDa のカルシウム結合タンパク質である¹⁴⁾。抗 Iba1 抗体はミクログリアマーカーとして汎用されているが、最近この Iba1 抗体にビオチンあるいは赤色蛍光色素を標識した商品が

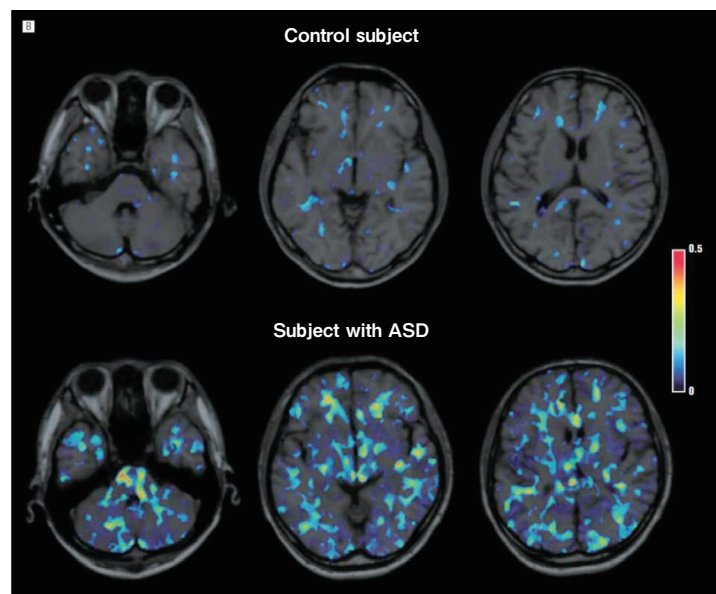


図1. 自閉症スペクトラム障害 (ASD) 患者脳における活性化ミクログリアの増加
活性化ミクログリアに特異的に結合するトレーサー [¹¹C]PK11195 を用いた PET により、
自閉症患者脳内で活性化ミクログリアが増加していることが示された (文献8)。

発売された。我々はマウス及びラットの脳切片を用いて、ビオチン標識及び赤色蛍光標識の抗 Iba1 抗体による免疫組織染色を行った (図2)。その結果、いずれの標識抗体でもミクログリアがその細い突起まで染色されることが確認できた。また、ビオチン標識抗体はマーモセット脳切片にも使用可能であることが分かった。いずれの動物種の脳切片でも二次抗体使用時より非特異的染色性が低く、従来の二次抗体を使用した場合に比べ染色時間や手順も少なくなることから、使用用途の拡大が期待される。

おわりに

ミクログリアは活性化状態における役割が注目されてきたが、近年の画像解析技術の進展により正常脳でも脳機能の維持や調節に積極的に関与するという知見が集まりつつある。本稿で紹介した新しい標識 Iba1 抗体は、ミクログリア研究の幅を広げることに寄与するだろう。ミクログリアはまだ多くの可能性を秘めた細胞であり、今後さらに新しい機能や役割が明らかになることが期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究は、真鍋朋子さんのご協力により遂行されたものであり、深く感謝いたします。

【参考文献】

1) Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F. and Helmchen, F.:

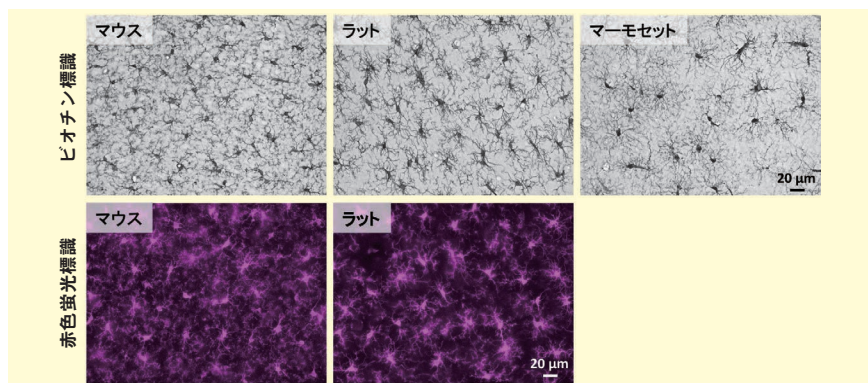


図2. 標識 Iba1 抗体を用いた免疫組織染色

マウス、ラット及びマーモセットの脳皮質において、標識抗体によりミクログリアがその細い突起まで染色されることが確認できた。

Science, **308**, 1314 (2005).
 2) Wake, H. *et al.* : *J. Neurosci.*, **29**, 3974 (2009).
 3) Schafer, D. P. *et al.* : *Neuron*, **74**, 691 (2012).
 4) Parkhurst, C. N. *et al.* : *Cell*, **155**, 1596 (2013).
 5) Vargas, D. L. *et al.* : *Ann. Neurol.*, **57**, 67 (2005).
 6) van Berckel, B. N. *et al.* : *Biol. Psychiatry*, **64**, 820 (2008).
 7) Fineberg, A. M. and Ellman, L. M. : *Biol. Psychiatry*, **73**, 951 (2013).
 8) Suzuki, K. *et al.* : *JAMA Psychiatry*, **70**, 49 (2013).
 9) Chaves, C. *et al.* : *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **34**, 550 (2010).
 10) Siller, S. S. and Broadie, K. : *Neural Plast.*, **2012**, 124548 Epub (2012).
 11) Ichinohe, N. : *Neurosci. Res.*, **93**, 176 (2015).
 12) Kawai, N. *et al.* : *Biol. Lett.*, **10**, 20140058 (2014).
 13) Yasue, M. *et al.* : *Behav. Brain Res.*, **292**, 323 (2015).
 14) Imai, Y. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **224**, 855 (1996).



コモンマーモセット

学名 *Callithrix jacchus*。体長 20-30 cm の小型霊長類。霊長類の中でも繁殖効率が高く、生後18ヶ月ほどで性成熟し、妊娠期間は約150日、出産は年2回である。1産2仔が多いが、飼育環境下では3仔や4仔の場合もある。2009年には霊長類で初めて遺伝子改変モデルマーモセットの作出に成功し、その後も種々の疾患モデルマーモセットの作製が活発に行われている。

シナプス

神経細胞間に形成される接合部位の構造。シグナル伝達などの神経活動に関与し、シナプスを介してニューロンが神経回路を形成することが正常な高次脳機能の発現に必要である。

ミクログリアマーカー抗体

抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合 抗 Iba1, ウサギ, 赤色蛍光標識(635)結合

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-26461	Anti Iba1, Rabbit, Biotin-conjugated	免疫化学用	100 μℓ	45,000
013-26471	Anti Iba1, Rabbit, Red Fluorochrome (635)-conjugated	免疫化学用	100 μℓ	45,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-19741	Anti Iba1, Rabbit (for Immunocytochemistry)	免疫化学用	50 μg	30,000
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting)	免疫化学用	50 μg	30,000

☑️…2~10℃保存 ☑️…20℃保存 ☑️…80℃保存 ☑️…150℃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、2016年7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。

ncRNA の機能解析 ～結合タンパク質を求めて～

産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター 機能プロテオミクスチーム 足達 俊吾

1 はじめに

細胞にはリボソーム RNA やトランスファー RNA、snoRNA など、タンパク質をコードしない non-coding RNA (ncRNA) が存在することは古くから知られていたが、次世代シーケンス技術に代表される近年の解析技術の発展により、以前に考えられていたよりもはるかに多くの ncRNA が存在することが明らかとなってきた^{1,2)}。また、その機能についても癌を含めた疾患との関係や、クロマチン状態制御、細胞内の構造体維持など多種多様な役割が明らかとなり、現在最も盛んに研究が行われている領域の一つとなっている^{3,4,5)}。ncRNA の機能を解析するには、ncRNA のノックダウンやノックアウト、強制発現による細胞や個体への影響を確認する実験とともに、ncRNA が働く分子メカニズムを明らかとする必要がある (図1)。多くの ncRNA は、タンパク質と結合することにより機能を発揮していると考えられていることから、ncRNA の機能を分子的に解明するためには ncRNA に結合するタンパク質を知ることがとても重要である。ncRNA に結合するタンパク質を知るためには、目的の ncRNA とともに ncRNA 結合タンパク質を精製、質量分析を用いて同定する必要があるが、ここには大き

な二つの問題がある。一つ目は、目的の ncRNA 及びその結合タンパク質を精製する良い方法が確立されていないこと、二つ目は、ncRNA に限らず細胞内の長鎖の RNA には数百種類ものタンパク質が同時に結合しており、数百種類ものタンパク質を同時に同定する必要があることに加え、その中から実際に解析を行うタンパク質を選び出す必要があるが、その基準がないことである。以下、これら二つの問題に対する我々のアプローチを紹介する (図1)。

2 RNA 結合タンパク質の同定方法

我々はまず、特定の ncRNA に結合するタンパク質を体系的に同定する方法の確立を目指した。ポジティブコントロールとして5種類のタンパク質 (CDK9, CyclinT, Hexim, LARP7, MEPCE) の結合が知られている、7SK-RNA という ncRNA を使い、結合タンパク質同定の確認実験を行った。一般に RNA とタンパク質複合体の精製には Biotin 化 RNA 及び、ストレプトアビジン付加ビーズを用いた方法が用いられていることから (図2)、我々は、Biotin 標識化された 7SK-RNA を *in vitro* 転写により合成、293T 細胞ライゼートと混ぜ合わせ、ストレプトアビジン付加ビーズ (以下ストレ

プトアビジンビーズ) を用い 7SK-RNA 結合タンパク質を精製、質量分析を用い結合タンパク質を同定した。その結果、残念なことに Biotin 化 RNA 及び、ストレプトアビジンビーズを用いた精製方法では、LARP7 以外の、CDK9, CyclinT, Hexim, MEPCE は同定されなかった。ストレプトアビジンビーズは非常に多くの細胞由来タンパク質と結合し、それらが精製のバックグラウンドとして存在すること (図2)、また質量分析には、夾雑タンパク質が多いと目的のタンパク質が夾雑タンパク質に埋もれ同定が困難になるという性質がある。これらのことから我々は、既知 7SK-RNA 結合タンパク質の多くが同定できなかった原因としてストレプトアビジンビーズのバックグラウンドの高さにあると考え、新たな RNA 及び結合タンパク質精製方法を模索、バックグラウンドが低いことが知られている Flag-peptide-tag と抗 Flag 抗体を用いた免疫沈降システム (以下 Flag システム) に注目した。我々は Flag システムを RNA 結合タンパク質同定に応用するために、*in vitro* で合成した RNA の 3' 末端に Flag ペプチドを化学的に付加 (RNA-Flag)、抗 Flag 抗体を用い RNA を精製する方法を開発した (図2, 3)⁶⁾。次に、7SK-RNA を含む複数の RNA について RNA-Flag (ベイト RNA) を合成、ベイト RNA と 293T 細胞ライ

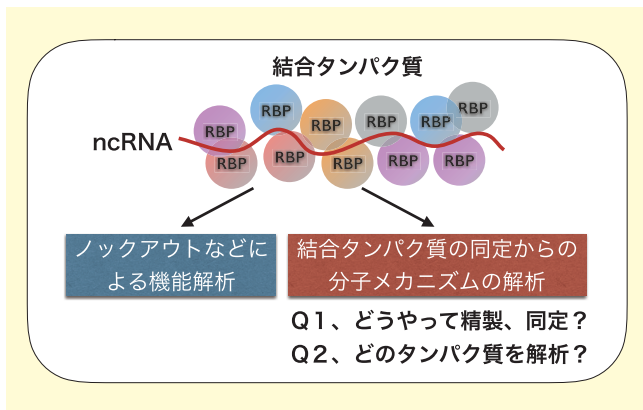


図1. ncRNA の解析の方向性と問題点

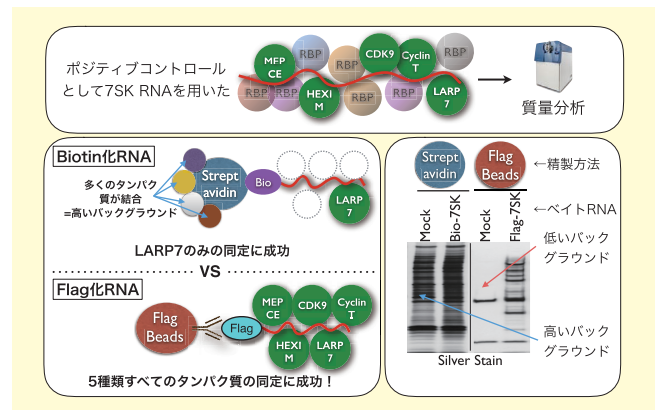


図2. 7SK-RNA を例とした ncRNA 結合タンパク質の同定例

ゼートを混ぜ合わせ、抗 Flag 抗体を用いベイト RNA 及び結合タンパク質を精製、質量分析を用いそれぞれのベイト RNA に結合するタンパク質を網羅的に同定した。その結果、どのベイト RNA を用いた場合にも数百種類のタンパク質が同定されたが、既知の 7SK-RNA 結合タンパク質 5 種類については、7SK-RNA をベイトとして用いた場合のみに特異的に同定されていることが明らかとなった (図 3)。この結果は、目的の RNA を含む複数のベイト RNA を用意し、それぞれに結合するタンパク質を網羅的に同定、その中から目的 RNA 特異的に結合するタンパク質を抽出することにより、重要な RNA 結合タンパク質が同定できる事を意味している。我々はこの方法を用い LDLR-mRNA の 3'UTR 領域 (広義の ncRNA 領域) に特異的に結合、LDLR-mRNA の安定性を制御するタンパク質として ZFP36L1/L2 の同定にも成功⁶⁾、結合特異性を指標に重要な RNA 結合タンパク質を同定する方法を iSRIM 法 (*in vitro* specificity based RNA regulatory protein identification method) と名付けた。以上のように我々は、バックグラウンドの低い RNA 精製方法の使用と、複数のベイト RNA 間での結合タンパク質を比較することにより上記の 2 問題の解決に成功した。以下にそれぞれの実験上のポイントをまとめた。

3 バックグラウンドの少ない RNA 精製のためのポイント

バックグラウンドを少なくするための対策としては、上記のように精製システムそのものの選択も重要であるが、Biotin 化 RNA を用いる際でも別の方法が存在する。我々は最近、和光純薬工業から販売されている Tamavidin[®] 2-REV Magnetic Beads (以下 Tamavidin[®] 2) による Biotin 化分子の精製システムを用いた実験を行っている。Tamavidin[®] 2 はストレプトアビジンビーズに比べ、バックグラウンドが低く (図 4)、実際に Tamavidin[®] 2 を用い Biotin 化 7SK-RNA の結合タンパク質の同定実験を行ったところ、ストレプトアビジンビーズを用いた場合には同定が困難であった 5 種類の既知 7SK-RNA 結合タンパク質全ての同定に成功している。Flag 化 RNA を用いる方法については、現状どの研究室でも使えるわけではないことから、RNA 結合タンパク質の同定を考慮おられる研究者にとって有用なツールであると考えられる。ただ、興味深いことに Tamavidin[®] 2 は、すべての Biotin 化分子と均一に結合するわけではなく、ある種の Biotin 化分子について結合が弱くなることが知られており、我々の研究室でも確認している。このことから、Tamavidin[®] 2

を用いる際にはまず、使用する Biotin 化分子との結合を確認することをお勧めする。

また、特定の精製システムを用いるとしても精製に用いるビーズの種類によって大きく差が出るため、適切なビーズを選択する必要がある (例えば、一般的にはアガロースビーズよりも磁気ビーズの方がよりバックグラウンドが少ない)。そして、ビーズの量やベイト量の調節も重要な要素となりうる。ビーズ量が少なければ、バックグラウンドが減る一方、ビーズ量を減らしすぎると当然ながら精製できるベイト RNA 量が減ってしまい、結合タンパク質の同定が困難となる。さらに、使用するベイト量が多すぎることにもマイナスに働きうる。これまでの経験上、RNA 結合配列特異性の高いタンパク質 (= 目的のタンパク質) は結合配列特異性の低いタンパク質と比べ細胞内の存在量が少ない事が多く、一定以上のベイト RNA 量を用いた場合、配列特異性の高いタンパク質の精製量は頭打ちとなり、配列特異性の低いタンパク質のみが増え、結果的に配列特異性の高いタンパク質 (= 目的のタンパク質) の同定を妨げることになる (筆者らは通常 1×10^7 個程度の細胞のライゼートを用いる際、細胞内の mRNA の総量よりはるかに少ない量である 1pmol 程度のベイト RNA を用いて実験を行っている)。

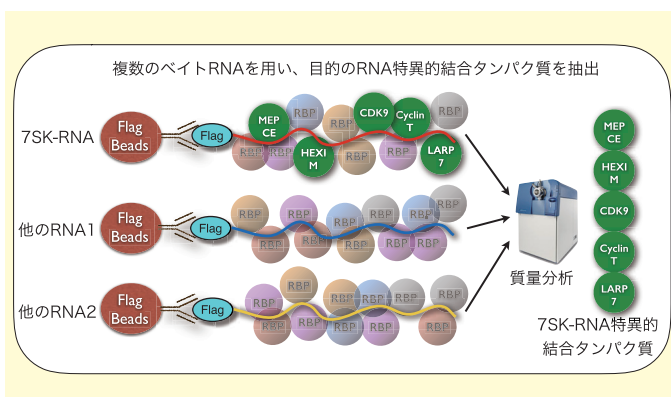


図 3. 比較による重要な RNA 結合タンパク質の同定

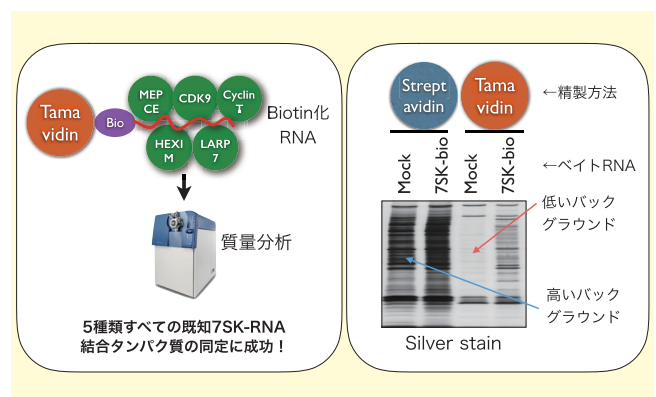


図 4. Tamavidin magnetic beads を用いた解析例

4 重要な結合タンパク質を選び出すためのポイント

上述のように、1種類のRNAには数百種類ものRNA結合タンパク質が結合していることから、同定された全てのタンパク質を解析することは不可能である。結合量の多いタンパク質から解析するという考え方もあるが、細胞内に多く存在し、RNA結合配列特異性の低いタンパク質は1種類のRNA上に複数結合している結果である可能性が高いため、ncRNAの機能としてRNAスポンジ^{7,8)}などを想定している場合を除き、結合量の多いタンパク質を解析することは必ずしも賢明な策とも言えない。我々は、上述のように複数のRNA間で結合タンパク質を比較し特異性を基準に解析すべきタンパク質を選ぶことが最も有効であると考えている。比較対象のRNAとしては例えば、目的ncRNAと明らかに機能が異なると考えられるncRNAや、目的ncRNAの相補配列、ncRNA上の機能エレメントが明らか場合はその領域を欠損させた欠損変異体をベイトとして用いる事などが考えられる

が、いずれの場合でも可能なかぎりベイトRNA量や長さが同じになるように配慮することが重要である。当然ながら、ビーズのみのmockとの比較は適切とは言えない。

5 今後の可能性

本稿では、ベイトRNAを合成し、*in vitro*においてベイトRNAと結合するRNA結合タンパク質を細胞ライゼート中から精製、同定する方法を紹介したが、最近、複数のアンチセンスオリゴを用いて内在性のRNAと結合するタンパク質を精製する方法として、CHART法やCHARP法などが開発され、実際にRNA結合タンパク質の同定に威力を発揮している^{9,10,11,12,13)}。このような実験においても、上述したポイントの重要性は変わらないか、特に目的ncRNAの長さが長い場合やncRNAの発現量が少ない場合は、より重要性が増すと考えられる。

【参考文献】

- 1) Hirose, T. *et al.* : *EMBO Rep.*, **15**, 489 (2014).
- 2) Cech, T. R. and Steitz, J. A. : *Cell*, **157**, 77 (2014).
- 3) Ulitsky, I. *et al.* : *Cell*, **147**, 1537 (2011).
- 4) Lee, J. T. : *Science*, **338**, 1435 (2012).



質量分析

分子の正確な質量を測定することにより、タンパク質を同定する方法。現在では一度の解析により数千タンパク質の同定、さらに定量が可能となっている。

Tamavidin®

タモギ茸より抽出されたBiotin結合タンパク質。Streptavidinと同様Biotin化分子の精製に用いられる。

7SK-RNA

細胞内に多量に存在する有名なncRNAの一つ。転写の活性に関わる。

- 5) Batista, P. J. and Chang, H. Y. : *Cell*, **152**, 1298 (2013).
- 6) Adachi, S. *et al.* : *Nucleic Acids Res.*, **42**, 10037 (2014).
- 7) Dickson, A. M. and Wilusz, C. J. : *Wiley Interdiscip Rev RNA*, **1**, 173 (2010).
- 8) Tay, Y. *et al.* : *Nature*, **505**, 344 (2014).
- 9) Ideue, T. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 5693 (2012).
- 10) Simon, M. D. *et al.* : *Nature*, **504**, 465 (2013).
- 11) Quinn, J. J. *et al.* : *Nat. Biotechnol.*, **32**, 933 (2014).
- 12) Engreitz, J. M. *et al.* : *Cell*, **159**, 188 (2014).
- 13) Chu, C. *et al.* : *Cell*, **161**, 404 (2015).

タマビジン磁気ビーズ

MagCapture™ シリーズ



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-77501	MagCapture™ RNA Pull Down Assay Kit (キット内容) Capture Magnetic Beads, Wash Buffer, Cell Lysis Buffer, Reconstitution Buffer, Biotin Elution Buffer	遺伝子研究用	10回用	58,000
136-18341	MagCapture™ Tamavidin® 2-REV	遺伝子研究用	2ml	40,000
133-18611	MagCapture™ HP Tamavidin® 2-REV	遺伝子研究用	2ml	58,000

ライセンスについて・・・Tamavidin®は日本たばこ産業株式会社の登録商標です。Tamavidin®2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。

1 はじめに

19世紀に、膵臓中にリパーゼの存在が確認され、リパーゼは、アミラーゼ、プロテアーゼとともに重要視され、産業的には医薬用消化酵素、診断薬、洗剤、食品加工、キラル合成などに利用されてきている^{1,2)}。またそれ以外にも近年グリーンケミストリーの観点から、酵素や微生物などの生体触媒の利用は注目されており、特に光学活性化化合物を得る手法としてリパーゼは広く利用され、多くの研究成果が報告されている³⁾。実用例では不二製油で行われたカカオ油脂の製造（1988年）や、田辺製薬によるジルチアゼム「ヘルベッサー」の中間体の光学活性体の製造（1993年）にリパーゼが利用されてきた⁴⁾。1980年以前は、合成医薬品中でキラルな化合物の殆どはラセミ体であったが、ラセミ体で上市するためには科学的根拠を要求されるようになったことから、光学活性な医薬品の割合が増えている。光学活性体の製造の中で、ラセミ体の分割に生体触媒が利用される場合、収率が最大でも50%であり、経済的にも環境面からも大きな問題となる。近年では、動的光学分割（DKR=Dynamic Kinetic Resolution）と呼ばれる、酵素とともに金属触媒等を作用させて、ラセミ化させながら目的の鏡像体に収束させる（理論収率100%）手法がいくつか報告されている⁵⁾。

リパーゼやプロテアーゼを代表とする加水分解酵素は、比較的多くの種類の酵素が安価に入手可能であるため現在でも最も手軽に利用されている。リパーゼはタンパク表面が比較的疎水性のアミノ酸で構成されているために、有機化学で使用される一般的な有機溶媒中で失活せず安定である。有機溶媒中で使用できる酵素は、反応系に有機溶媒を添加したり水層との2層系にしたりすることで基質（または生成物）

の溶解度の向上、生成物阻害の回避、生成物の有機溶媒層（または水層）への除去、酵素液の再利用などができる可能性があるため反応系をデザインする上で選択肢が大きく広がる。本稿では主に光学活性体製造用途における各種リパーゼの利用について、その特徴と有効性を紹介する。

2 リパーゼの特徴

リパーゼは脂質のエステル結合を加水分解する酵素の総称である（EC 3.1.1.3）。リパーゼは脂肪酸とグリセリンからなるトリグリセリドを基質として、加水分解、合成、または転移反応を行う。リパーゼは基質であるトリグリセリドの多様性から、分解特異性が異なる数多くの種類が知られている。リパーゼの基質特異性は次のように分類される⁶⁾。

【位置特異性】

リパーゼがトリグリセリドに作用して脂肪酸を遊離する時に、どの位置のトリグリセリド（1位、2位、3位）を加水分解するのかがリパーゼの種類により異なる。Lipase AS “Amano” や Lipase M “Amano” 10 が比較的に1, 3位特異的に分解し、Lipase AYS “Amano” は非特異的に分解する特徴をもつ。また Lipase G “Amano” 50 はトリグリセリドに作用しないがジグリセリド、モノグリセリドに作用するユニークな酵素である（表1）。

【脂肪酸の鎖長特異性】

トリグリセリドに結合している脂肪酸の鎖長（炭素数）は2～24前後と幅が広い。短鎖の脂肪酸結合、あるいは中鎖の脂肪酸結合及び長鎖の脂肪酸結合を良く加水分解するリパーゼに分類される（表1）。

【反応様式】

リパーゼの反応は可逆的であり反応条件により、エステル結合の合成も触媒できる。加水分解、エステル化反応、エステル交換反応がある。

3 アマノリパーゼの紹介

リパーゼは主に脂質の加水分解反応に関わる酵素であるが、基質特異性が広く種々のエステル化合物に作用し、高い立体選択性を示す。その為アルコールやカルボン酸の光学分割に利用されている。ただしリパーゼの由来によってその立体選択性は大きく異なるので、要求される立体構造によって最も適した性能のリパーゼを選択することになる。リパーゼは動物以外にも、植物、微生物と広く分布しているが、その利用の多くが微生物由来のリパーゼとなっている。これは、遺伝子組換え技術等の菌株改良技術がすすみ、安定的に高発現させる製造技術が進んだ背景がある。また多種類のリパーゼが取得できるようになったことからその比較実験により、リパーゼの多様性が確認されつつある。一般的に *Burkholderia cepacia* 及び、*Candida antarctica* 由来のリパーゼ剤の研究報告が多いことが知られている。以下にアマノリパーゼとその特徴的な酵素についてまとめる（表1）。

Lipase PS “Amano” SD

Lipase PS “Amano” SD は、*Burkholderia cepacia* 由来のアミノ酸数320のリパーゼで *Candida antarctica* 由来のリパーゼとともにキラル合成用途で研究報告例が多い酵素の一つである。選択性が非常に高いリパーゼであり、多数の報告例がある。スクリーニングを行う際にはまずは試してみる価値のある酵素剤である。

Lipase AK “Amano”

Lipase AK “Amano” は、*Pseudomonas fluorescens* 由来のアミノ酸数320のリパーゼで、Lipase PS “Amano” SD ほどではないが、キラル合成用途のリパーゼとして有用な酵素剤である。Lipase PS “Amano” SD と類似したアミノ酸配列であるが、選択性に違いがみられるためこちらも併に試すことを

表1. アミノリパーゼの性質

リパーゼ	形態	油脂位置特異性	脂肪酸鎖長特異性	立体選択性報告例の数
Lipase AS "Amano"	粉末	1,3>>>2	短中鎖	☆☆☆
Lipase AK "Amano"	粉末	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆
Lipase AYS "Amano"	粉末	無し	短中長鎖	☆☆☆
Lipase G "Amano" 50	粉末	無し	中長鎖	☆
Lipase M "Amano" 10	粉末	1,3>>>2	中長鎖	☆
Lipase PS "Amano" SD	粉末	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆☆
Lipase PS "Amano" IM	固定化酵素	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆☆

推奨する。

Lipase AYS "Amano"

Lipase AYS "Amano" は *Candida rugosa* 由来の酵素剤でアミノ酸数は534である。選択性は概して良くないが大きなアルコールで良い選択性を示すことがある。油脂の3つの位置のエステル結合を同程度に非特異的に加水分解することが大きな特徴である。

市販酵素剤の中には、粗酵素品の場合があり、複数の酵素が混合された状態で存在しているものもある。また賦形剤が含まれてタンパク質含量も数%に過ぎない酵素剤もあり扱いの際には注意が必要である。

4 酵素のスクリーニング例

先にも述べたとおり目的となる光学活性体を選択する方法として酵素を利用する場合、基質ごとに反応性を評価する必要がある。ここでは光学活性体を得るための酵素を選択する一例として加水分解とエステル交換反応によるスクリーニング例を以下に示す。

《加水分解反応》

1mlの終濃度0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.0)に酵素粉末を10mg加えて溶解させる。さらに反応基質を20mg加える。基質が不溶な場合は、そのまま懸濁させた状態で反応を行うか、数10%のアルコールやアセトンで混和させる方法をとることも可能である。一

晩攪拌させた後に、反応液を有機溶媒にて抽出して、TLC、GC、HPLC等で生成物の有無や光学純度を確認する(図1, 2)。またトルエンなどの水と混和しない有機溶媒を用いて水との2相系を用いて行うこともできる。

《エステル交換反応》

1mlの有機溶媒(*n*-ヘプタン等)に反応基質を20mg加えて溶解させる。さらに酢酸ビニル等のアシル化剤

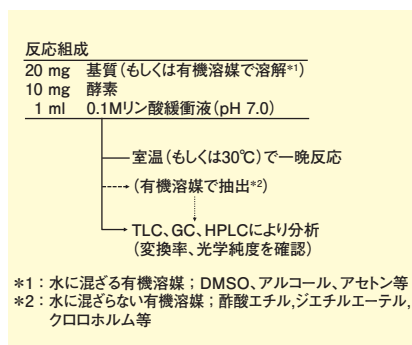


図1. 加水分解反応の操作概要

を基質と等量モル以上加えて、酵素粉末もしくは固定化酵素を10mg加えて一晩攪拌反応させる。反応液からろ過や抽出により酵素を除いて、TLC、GC、HPLC等で生成物の有無や光学純度を確認する(図3, 4)。

有用な酵素が選別された場合には、さらに反応を最適化させることになるが、基質濃度、酵素濃度、溶媒、反応温度、アシル化剤(エステル交換の場合)の種類等を検討することになる。なお反応系に有機溶媒を用いる場合には、タンパクの失活や立体選択性に影響を与えることが知られており、使用溶媒には注意が必要である。また最適な酵素が見つからなくても、新たな酵素をスクリーニングするのではなく基質の構造を変えることで解決できる場合がある。化学法と異なり基質濃度がどこまで上げられるかは酵素法の大きな問題点であり最低でも5~10%が望まれる。

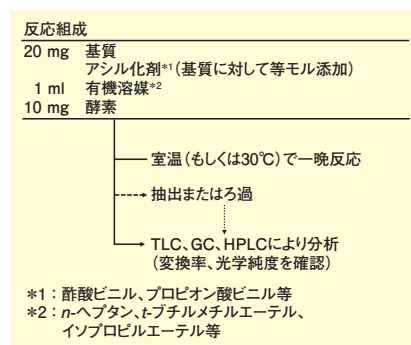


図3. エステル交換反応の操作概要

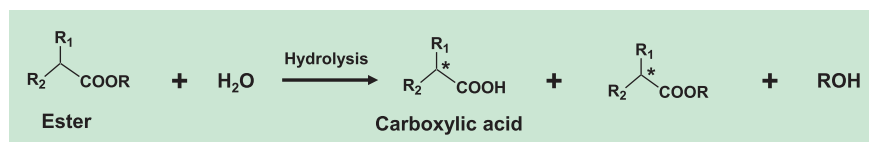


図2. 加水分解反応式例 (* 不斉中心を示す)



図4. エステル交換反応式例 (* 不斉中心を示す)

5 固定化酵素の利用

酵素の固定化は、有機溶媒中での反応性の向上、安定性の向上、繰り返し使用によるコストダウンなどが期待できることからプロセス開発における重要な項目となる。工業的には、抗生物質中間体である6-APAの製造におけるペニシリンアシラーゼや光学活性アミノ酸製造におけるアミノアシラーゼなどが代表的な固定化酵素の実用化例である。

酵素の固定化には、一般的に担体結合法、架橋法、包括法が知られている。Lipase PS “Amano” IMは担体結合法により調製された固定化酵素であり、珪藻土に疎水的に吸着している。疎水結合による固定化酵素は立体構造の大きな変化を伴わずに結合していることが多い為、酵素本来の能力を維持できていることが多い。Lipase PS “Amano” IMは従来の粉末品のLipase PS “Amano” SDと比べてエステル交

換活性が非常に高く、有機溶媒耐性も高い固定化酵素であり、特に有機溶媒を用いた微水系の反応に適した固定化酵素である(図5)。

6 おわりに

医薬分野において光学活性体の需要は高く、簡便で効率的な光学活性体の製造法の確率は今後とも重要になっ

てくる。リパーゼの工業利用は、その目的にあったリパーゼを選択することが重要であるが、近年はバイオテクノロジー技術が進み、目的遺伝子の機能改変に関する報告が多くされている。今後は、有用な酵素を効率よく探索し、目的の基質にあったリパーゼに改変するなどテラメイド酵素の開発に対応していく必要がある。

【参考文献】

- 1) 井上國世 監修:「酵素応用の技術と市場 2015」(シーエムシー出版)(2015)。
- 2) 日本酵素協会「日本高所産業小史」ワーキンググループ編:「日本酵素産業小史」(日本酵素協会)(2009)。
- 3) 吉岡龍城 監修:「光学活性医薬品開発とキラルプロセス化学技術」(サイエンス&テクノロジー)(2011)。
- 4) 国立科学博物館産業技術史資料情報センター編:国立科学博物館技術の系統化調査報告, 14, (173)(2009)。
- 5) 赤井周司:生産と技術, 66 (2), 57 (2014)。
- 6) 天野エンザイム株式会社ホームページ
<http://www.amano-enzyme.co.jp/jp/>

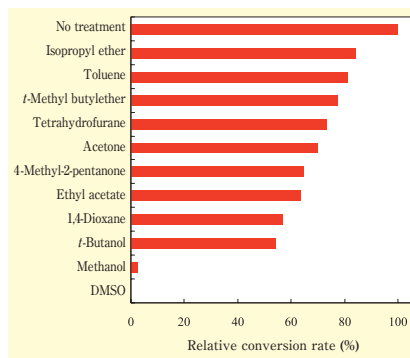


図5. 各有機溶媒に対するLipase PS “AMANO” IMの安定性
25°C、24時間で各有機溶媒処理した後のエステル交換活性の残存率

Products

アマノリパーゼ



株式会社ワコーケミカル

コード No.	品名	起 源	活 性	規 格	容 量	希望納入価格(円)
NEW 015-26311	D-Aminoacylase Amano	☐ ^F <i>E. coli</i>	≥ 5.0 Munits/g	有機合成用	10Munits	13,000
NEW 011-26313					50Munits	32,000
NEW 125-06541	Lipase AK Amano	☐ ^{Ref} <i>Pseudomonas fluorescens</i>	≥ 20,000 FIP units/g	有機合成用	10g	6,500
NEW 121-06543					50g	18,500
NEW 129-06561	Lipase AS Amano	☐ ^{Ref} <i>Aspergillus niger</i>	≥ 12,000 units/g	有機合成用	10g	6,000
NEW 125-06563					50g	13,000
NEW 122-06551	Lipase AYS Amano	☐ ^{Ref} <i>Candida cylindracea</i>	≥ 30,000 units/g	有機合成用	10g	4,500
NEW 128-06553					50g	10,500
NEW 121-06521	Lipase G Amano 50	☐ ^{Ref} <i>Penicillium camemberti</i>	≥ 50,000 units/g	有機合成用	10g	7,500
NEW 127-06523					50g	16,000
328-58341	Lipase M Amano 10	☐ ^{Ref} <i>Mucor javanicus</i>	—	ワコーケミカル	10g	3,300
324-58343					50g	7,000
NEW 128-06531	Lipase PS Amano SD	☐ ^{Ref} <i>Burkholderia cepacia</i>	≥ 23,000 FIP units/g	有機合成用	10g	5,500
NEW 124-06533					50g	14,000
NEW 127-06501	Lipase PS IM Amano, Immobilized on	☐ ^{Ref} <i>Burkholderia cepacia</i>	≥ 500 units/g	有機合成用	5g	5,000
NEW 125-06502	Diatomaceous Earth				25g	12,000

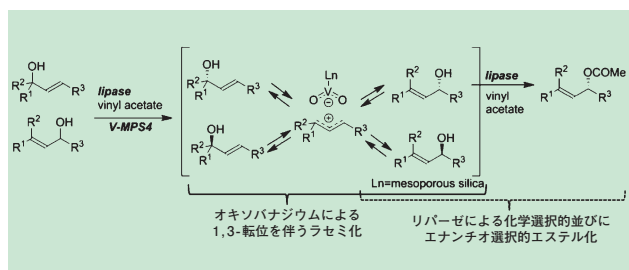
☐^{Ref}…2~10°C保存 ☐^F…-20°C保存 ☐³⁰…-80°C保存 ☐¹⁵⁰…-150°C保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。掲載内容は、2016年7月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

リパーゼ触媒による動的光学分割法

V-MPS4

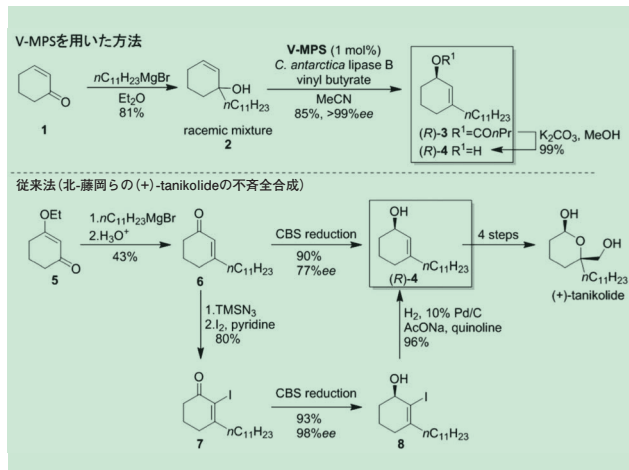
通常、加水分解酵素であるリパーゼを利用した反応は、ラセミ体のうちの片方の鏡像異性体だけを反応させるため、生成物の収率は最大50%になります。

本品は、メソポーラスシリカにオキソバナジウム化合物を担持した触媒で、リパーゼと同一の反応系で使用すると、ラセミ体アルコールから1つのエナンチオマーのみを収率100%で得ることができます。



反応例^{2,3)}

■ 抗菌剤(+)-タニコライドの不斉全合成の鍵中間体(R)-4の合成への応用



従来法より短工程、高収率に(R)-4の合成に成功した。

【参考文献】

- 1) Egi, M., Sugiyama, K., Saneto, M., Hanada, R., Kato, K. and Akai, S.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 3654 (2013).
- 2) 赤井周司: 生産と技術, **66**, 57 (2014).
- 3) Fujioka, H., Matsuda, S., Horai, M., Fujii, E., Morishita, M., Nishiguchi, N., Hata, K. and Kita, Y.: *Chem. Eur. J.*, **13**, 5238 (2007).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
228-02341	V-MPS4	有機合成用	1g	16,000
224-02343			5g	50,000

再販のお知らせ

乾燥用 青色シリカゲル

本品は、インジケーターに塩化コバルトを使用した、乾燥用シリカゲルです。

シリカゲルが吸湿することにより、青色から桃色に変化します。吸湿したシリカゲルは加熱することで再生し、再利用可能です。

■ 吸湿による色調変化

相対湿度: 0% 20% 50% 90%



シリカゲル 青 (塩化コバルト)

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
199-18295	Silica Gel, Small Granular, Blue (粒径: 約1-3mm)	500g	1,800
192-18305	Silica Gel, Medium Granular, Blue (粒径: 約2-5mm)	500g	1,650
190-18301		3kg	9,800
198-18307	Silica Gel, Large Granular, Blue	12.5kg	照会
192-18285		500g	1,650
198-18287		12.5kg	照会

関連商品

乾燥用コバルトフリーシリカゲル

インジケーターに有機系色素(テトラフェニルリンポルフィリン二塩化物塩)を使用しています。

シリカゲルが吸湿することにより、緑色から桃色を経て橙色に変化します。

相対湿度: 0% 20% 50% 90%



シリカゲル 緑 (コバルトフリー)

【再生時の注意】130℃以上で加熱した場合、インジケーターが分解し正しい湿度を示さない恐れがありますので、130℃以下で乾燥して下さい。加熱の目安は2時間です。

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
緑色			
196-16625	Silica Gel, Small Granular, Green (粒径: 約1.2-2.4mm)	500g	2,900
190-16645	Silica Gel, Medium Granular, Green (粒径: 約1.7-4.0mm)	500g	2,600
198-16641		3kg	15,000
196-16647	Silica Gel, Large Granular, Green (粒径: 約3.35mm以上)	12.5kg	照会
194-16665		500g	2,700
190-16667		12.5kg	照会
混合, 緑色			
193-16635	Silica Gel, Small Granular, Mixed (Green) (粒径: 約1.2-2.4mm)	500g	3,500
197-16655	Silica Gel, Medium Granular, Mixed (Green) (粒径: 約1.7-4.0mm)	500g	2,900
193-16657		12.5kg	照会
191-16675	Silica Gel, Large Granular, Mixed (Green) (粒径: 約3.35mm以上)	500g	3,400

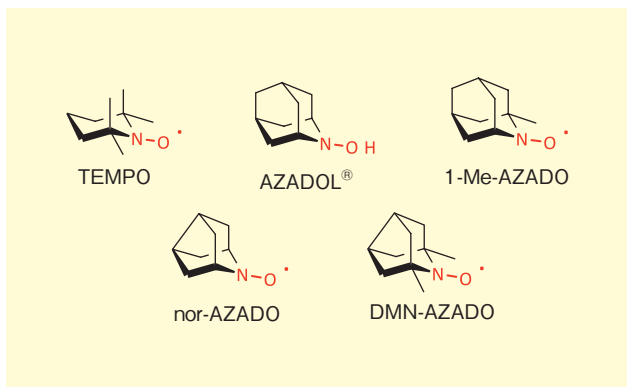
超高活性酸化触媒シリーズ



nor-AZADO

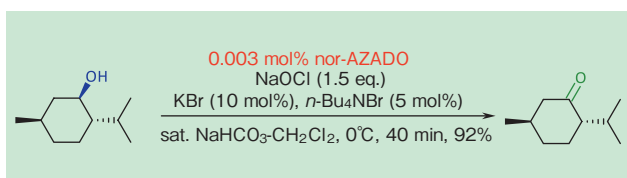
AZADO シリーズは、TEMPO 酸化の 20 倍以上の活性を示す超高活性酸化触媒です。通常では、TEMPO 酸化で反応が進行しない立体障害の大きな 2 級アルコールの酸化が、AZADO シリーズを用いることにより可能となります。また、反応速度が速いため、TEMPO 酸化に比べ副反応生成物が少ない点が特長として挙げられます。

この度、nor-AZADO の大容量を追加しました。

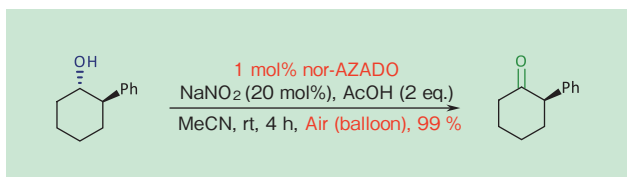


反応例

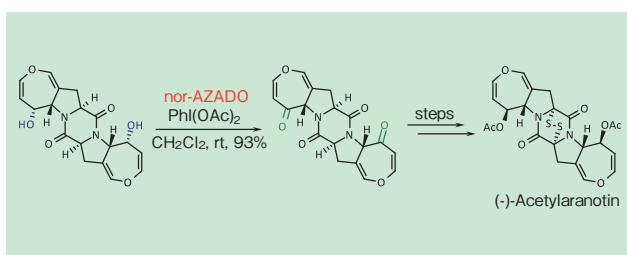
① NaOCl を用いた AZADO 酸化



② 空気酸化反応



③ 天然物合成への応用



【参考文献】

- 1) 岩濤好治：和光純薬時報，75 (1)，2 (2007).
- 2) 岩濤好治：Organic Square，29，2 (2009).
- 3) 岩濤好治：Organic Square，45，2 (2013).
- 4) 澁谷正俊，岩濤好治：和光純薬時報，84 (1)，8 (2016).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
012-24981			100mg	10,000
NEW 016-24984	nor-AZADO	Ref 有機合成用	1g	16,000
NEW 012-24986			5g	65,000

関連商品

酸化触媒

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
010-24921			100mg	4,600
016-24923	AZADOL [®]	Ref 有機合成用	1g	14,000
014-24924			5g	48,000
048-33891	DMN-AZADO	Ref 有機合成用	100mg	11,000
044-33893			500mg	37,000
132-15261	1-Methyl-2-azaadamantane- <i>N</i> -oxyl	有機合成用	100mg	8,500
138-15263	【1-Me-AZADO】	Ref	500mg	29,000
209-19501	2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy, Radical	有機合成用	5g	6,700
207-19502	【TEMPO】	Ref	25g	20,000
205-19503			100g	65,000

AZADOL[®] は、日産化学工業株式会社の登録商標です。

共酸化剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
197-02206	Sodium Hypochlorite Solution	化学用	500ml	850
195-02207			20kg	照会
195-17212	Sodium Hypochlorite Pentahydrate	Ref	25g	2,300
199-17215	結晶タイプ	和光一級	500g	4,500
049-32961			5g	3,000
047-32962	(Diacyoxyiodo) benzene	有機合成用	25g	7,500
045-32963			250g	40,000

品目追加

Wako WAKO CHEMICAL 株式会社ワコーケミカル

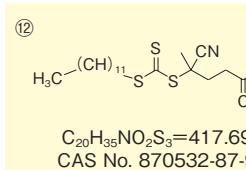
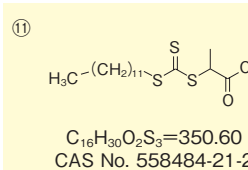
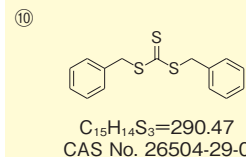
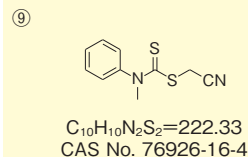
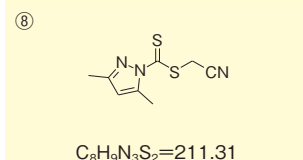
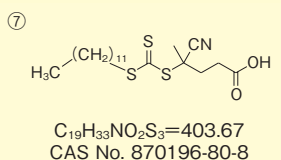
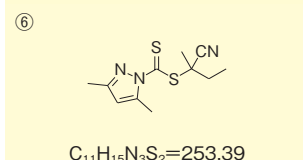
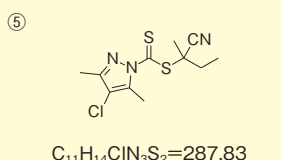
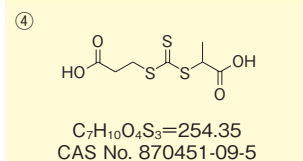
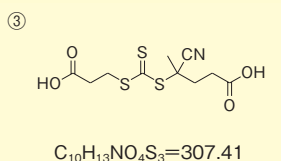
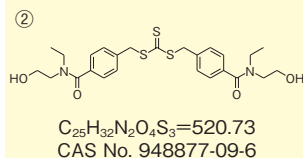
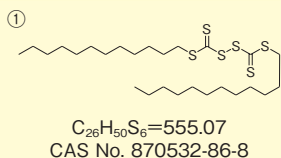
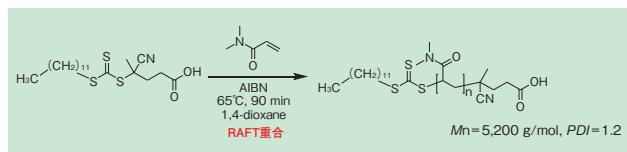
RAFT 剤

本品は、制御リビングラジカル重合手法の一つである RAFT 重合に用いられる連鎖移動剤です。分子量の分布範囲が狭いポリマーの合成に有効です。

特長

- 分子量の分布範囲が狭いポリマーを合成可能
- 反応系にハロゲン・重金属を含まないため低環境負荷な重合法
- 適したRAFT剤（連鎖移動剤）を用いることで、広範囲のラジカル重合性モノマーの重合制御が可能
- 水やイオン性物質の影響を受けにくい重合系であるため、官能基をもつモノマーや水系での重合にも比較的容易に適用可能

反応例



【参考文献】

1) Kang, H. et al. : *Polym. Sci. A : Polym. Chem.*, **53**, 1777 (2015).

No.	コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
1	357-40901	Bis (dodecylsulfanylthiocarbonyl) disulfide	ワコーケミカル	1g	11,000
	353-40903			5g	40,000
2	029-17961	Bis[4-[ethyl-(2-hydroxyethyl)carbamoyl]benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	5g	7,000
	027-17962			25g	16,000
3	358-40931	4-[(2-Carboxyethylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]-4-cyanopentanoic Acid	ワコーケミカル	1g	17,000
	354-40933			5g	57,000
4	037-24651	2-[(2-Carboxyethyl)sulfanylthiocarbonyl]sulfanyl]propanoic Acid	有機合成用	1g	11,000
	033-24653			5g	40,000
5	354-40911	2'-Cyanobutan-2'-yl 4-Chloro-3,5-dimethylpyrazole-1-carbodithioate	ワコーケミカル	1g	18,000
	350-40913			5g	59,000
6	034-25021	2'-Cyanobutan-2'-yl 3,5-Dimethylpyrazole-1-carbodithioate	有機合成用	1g	16,000
	030-25023			5g	57,000
7	030-24641	4-Cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]pentanoic Acid	有機合成用	1g	17,000
	036-24643			5g	57,000
8	351-40921	Cyanomethyl 3,5-Dimethylpyrazole-1-carbodithioate	ワコーケミカル	1g	17,000
	357-40923			5g	57,000
9	035-24691	Cyanomethyl N-Methyl-N-phenylthiocarbamate	有機合成用	1g	14,000
	031-24693			5g	51,000
10	047-33981	S,S-Dibenzyl Trithiocarbonate	有機合成用	1g	14,000
	043-33983			5g	53,000
11	351-40781	2-[(Dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]propanoic Acid	ワコーケミカル	1g	11,000
	357-40783			5g	40,000
12	350-40751	Methyl 4-Cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]pentanoate	ワコーケミカル	1g	17,000
	356-40753			5g	57,000

RAFT 剤 試薬セット

5種類のトリチオカルボネート型RAFT剤のセットです。共役モノマーのスクリーニングにご利用下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
183-03341	RAFT Reagent Set 1	有機合成用	1セット (1g×5種類)	照会

セット内容：上記価格表 No. 3、4、7、11、12の化合物各1gのセット

マスターファイル登録済み



bFGF 溶液, MF

本品は、2016年5月に原薬等登録原簿（マスターファイル：MF）にその他（培地添加物）区分として登録されました。

bFGF（塩基性線維芽細胞成長因子：basic fibroblast growth factor）は、ヒトES/iPS細胞培養時に未分化性を維持させながら、細胞を増殖させるために必須の因子とされており、未分化維持用培地に添加して使用されています。

当社は科研製薬株式会社が販売する褥瘡・皮膚潰瘍治療剤「フィブラスト® スプレー」の有効成分である組換え型ヒトbFGFを同社より提供を受け、再生医療研究用試薬として販売しています。

特長

- MF登録済み*
 - 生物由来原料基準クリア
 - 製造プロセスでの無菌保証
 - Ready-to-Useの溶液品
- そのまま培地に添加してご使用頂けます

製品概要

- 形状：溶液品
- 含量（SDS-PAGE）：99%以上
- タンパク質濃度：0.9～1.1mg/ml
（初回実績値 1.0mg/ml）
- エンドトキシン：10EU/mg以下
- 比活性：50万国際標準単位/mg以上（BHK-21細胞を用いたバイオアッセイ法による）

【参考文献】

1) Akutsu, H. et al : *Regenerative Therapy*, 1, 18 (2015).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-06661	bFGF Solution, MF [E°]	細胞培養用	50μl	80,000
068-06663			50μl×4	260,000

マスターファイル登録済み



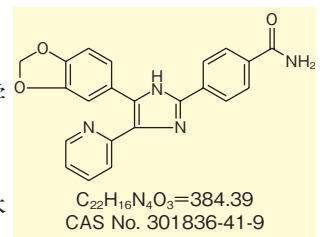
SB431542, MF

本品は、その他（培地添加物）区分として2016年6月に原薬等登録原簿（マスターファイル：MF）に登録しました。製造工程や分析法のバリデーション、変更管理を実施し、恒常的に安定した品質の製品を得られる体制で製造しています。

SB431542は、TGF-βスーパーファミリー1型アクチビンレセプター様キナーゼ（ALK）の選択的阻害剤で、ALK4、5、7を阻害します。ES細胞由来内皮細胞の増殖、分化、シート形成を刺激すると報告されています。また、チアゾピビン、PD0325901とともに使用するとトリプログラミング効率が200倍以上改善し、かつトリプログラミングがスピードアップするとも報告されています。

特長

- MF登録済み*
- アニマルフリー
動物由来原料不使用の化学合成品
- 国産
合成～包装までを全て日本国内で製造
- 高い品質安定性
連続複数ロット合格実績



製品概要

- 外観：白色～黄褐色、結晶性粉末～粉末
- 含量（HPLC）：98.0%以上
- 溶解性：DMSO、アセトニトリルに可溶
- 水分：2.0%以下
- エンドトキシン：0.05EU/mg未満
- 生菌数試験、マイコプラズマ試験済み

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
193-18031	SB431542, MF [E°]	細胞培養用	5mg	24,000
199-18033			25mg	84,000

関連商品

MF登録品*

コードNo.	品名	登録番号	規格	容量	希望納入価格(円)
259-00613	Y-27632, MF [E°]	227MF40013	細胞培養用	5mg	50,000
257-00614				25mg	200,000
038-24821	CKI-7 Dihydrochloride, MF [E°]	228MF40005	細胞培養用	5mg	27,000
034-24823				25mg	96,500

※原薬等登録原簿（MF）への登録は、厚生労働省（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）による、品質及び安全性に関する確認または評価が行われたことを意味するものではありません。

ポジティブリスト関連

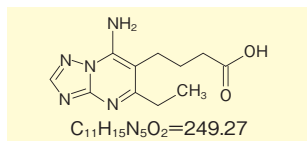


農薬標準品

ポジティブリスト関連の残留農薬試験用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。

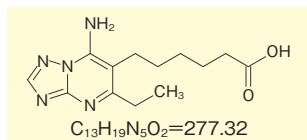
■アメトクトラジン代謝産物 B 標準品

化学名：4-(7-Amino-5-ethyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-6-yl)butanoic Acid
 含量 (HPLC)：98.0% 以上
 外 観：白色～わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末～粉末



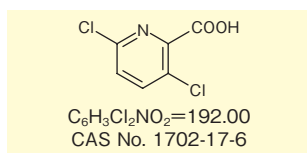
■アメトクトラジン代謝産物 G 標準品

化学名：6-(7-Amino-5-ethyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-6-yl)hexanoic Acid
 含量 (HPLC)：95.0% 以上
 外 観：白色～わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末～粉末



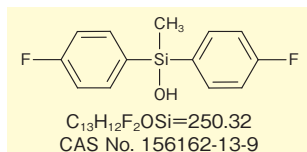
■クロピラリド標準品

化学名：3,6-Dichloropyridine-2-carboxylic Acid
 含量 (qNMR)：98.0% 以上
 外 観：白色、結晶～結晶性粉末
 備 考：除草剤



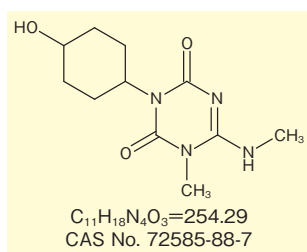
■フルシラゾール代謝産物 D 標準品

化学名：[Bis(4-fluorophenyl)methyl]silanol
 含量 (qNMR)：98.0% 以上
 外 観：白色、結晶性粉末～粉末



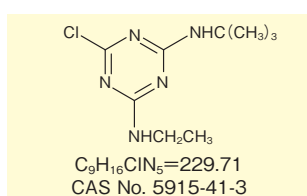
■ヘキサジノン代謝産物 C 標準品 (異性体混合物)

化学名：3-(4-Hydroxycyclohexyl)-6-(methylamino)-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4-(1H,3H)-dione
 含量 (HPLC)：98.0% 以上 (異性体混合)
 外 観：白色、結晶性粉末～粉末



■テルブチラジン標準品

化学名： N^2 -*t*-Butyl-6-chloro- N^4 -ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
 含量 (qNMR)：98.0% 以上
 外 観：白色、結晶性粉末～粉末
 備 考：除草剤



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 011-26151	Ametoctradin Metabolite B Standard	残留農薬試験用	20mg	45,000
NEW 018-26161	Ametoctradin Metabolite G Standard	残留農薬試験用	20mg	45,000
NEW 038-24941	Clopyralid Standard	残留農薬試験用	100mg	10,000
NEW 067-06611	Flusilazole Metabolite D Standard	残留農薬試験用	100mg	40,000
NEW 086-10211	Hexazinone Metabolite C Standard (mixture of isomers)	残留農薬試験用	100mg	30,000
NEW 206-20361	Terbutylazine Standard	残留農薬試験用	100mg	9,000

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。

当社試薬 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) → 1. ポジティブリスト制度対応 取扱ひ品目一覧 (16.07)

Presep® HC-N シリーズ対応 TLC プレート

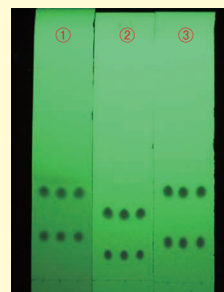
シリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレート・ワコー

本品は、細孔径4nmの高比表面積タイプのシリカゲルを塗布した TLC プレートです。

高分離能、高サンプル負荷量を実現する中圧分取用カラムプレセップ®シリカゲル (HC-N) シリーズと相関性があり、これらを併用することによりカラム溶出時間を予測することが可能です。また、一般シリカゲル TLC プレート (細孔径6~7nmのシリカゲルを塗布。) と比較して Rf 値が小さくなるため、展開液の極性溶媒の組成を上げることが可能で、難溶性化合物の分離に有効です。

データ

■分離性能比較



プレート：2cm×10cm (7cm 展開)
 サンプル：DBP*1 0.01g/ml
 DMP*2 0.01g/ml
 in Hex/AcOEt=85/15
 チャージ量：0.5μl

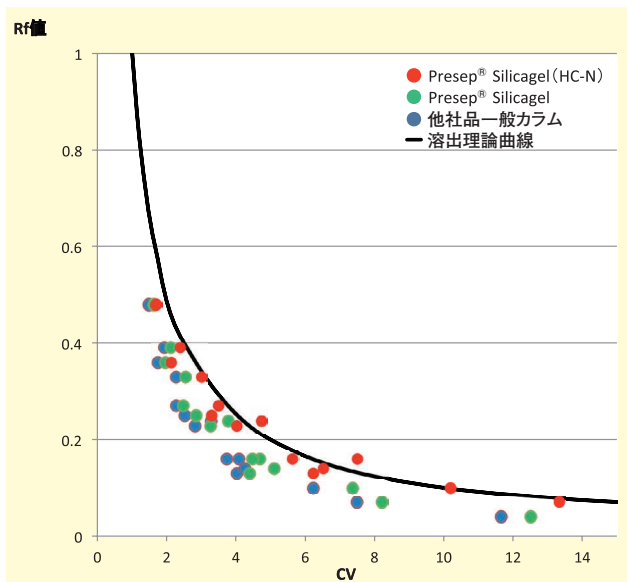
*1 DBP = Dibutyl Phthalate
 *2 DMP = Dimethyl Phthalate

TLC プレート	展開溶媒 (Hex/AcOEt)	Rf 値	
		DBP*1	DMP*2
①一般 TLC プレート	85/15	0.41	0.21
②40F ₂₅₄ TLC プレート	85/15	0.31	0.11
③40F ₂₅₄ TLC プレート	80/20	0.42	0.19

[次頁に続く]

Ref... 2~10℃保存 F... 20℃保存 30... 80℃保存 35... 150℃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、2016年7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。

40F₂₅₄ TLCプレート-ワコーと各分取用カラムの保持相関グラフ



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
194-18201	Silicagel40 F ₂₅₄ TLC Plate-Wako	薄層クロマト グラフ用	5枚 (20cm×20cm)	9,500

関連商品

シリカゲル 40F₂₅₄ TLCプレート-ワコーに対応した中圧分取用カラム、カラムクロマト用シリカゲルです。

中圧分取用カラム

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-34041	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取用クロマト グラフ用	20本	35,000
297-34043	Type M (13g/25mℓ)		100本	照会
295-34061	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取用クロマト グラフ用	20本	45,000
291-34063	Type L (35g/70mℓ)		100本	照会
292-34071	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取用クロマト グラフ用	20本	60,000
298-34073	Type 2L (50g/100mℓ)		100本	照会
294-34031	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取用クロマト グラフ用	5本	28,000
290-34033	Type 3L (115g/200mℓ)		30本	照会
299-34081	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取用クロマト グラフ用	5本	38,000
295-34083	Type 4L (230g/400mℓ)		30本	照会

カラムクロマトグラフ用

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
235-02455	Wakosil® HC-N	カラムクロマト グラフ用	500g	8,000
233-02451			2kg	25,000
231-02457			10kg	照会

使いやすい溶液タイプ登場



リシルエンドペプチダーゼ® 溶液

本品は、リシンのカルボキシル基側のペプチド結合を極めて特異的に切断するセリンプロテアーゼです。TLCK, PMSF及びDFPで阻害され、TACKでは阻害されません。

優れた特異性を利用して、タンパク質の一次構造解析のためのペプチド鎖の断片化や、ペプチドマッピングなどに利用されています。

この度、ご利用頂きやすい溶液タイプを発売しました。

特長

- 基質特異性が高い
- 便利な溶液タイプ



製品概要

- 形状：溶液 (2mmol/ℓ Tris-HCl Buffer, pH 8.0)
- 活性：8.0 ~ 12.0AU/mℓ (実測値ラベルに記載)
- 単位の定義：pH 9.5、30℃で1分間に1μmolのp-ニトロアニリンを生成する酵素量を1AUとする。
- EC No. : 3.4.21.50

【参考文献】

- 1) Masaki, T. et al. : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1443 (1978).
- 2) Morihara, K. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **92**, 396 (1980).
- 3) Schwert, G.W. and Takenaka, Y. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **16**, 570 (1955).
- 4) Tuppy, H. et al. : *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **329**, 278 (1962).
- 5) Masaki, T. et al. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **660**, 44 (1981).
- 6) Masaki, T. et al. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **660**, 51 (1981).
- 7) 網沢 進, 正木 武治, 広瀬 正明, 副島 正美, 崎山 文夫: 蛋白質 核酸 酵素, **31** (7), 629 (1986).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
127-06621	Lysyl Endopeptidase® Solution	Ref	5AU	25,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
125-02543	Lysyl Endopeptidase®	E°	2AU	8,000
129-02541			10AU	37,500
125-05061	Lysyl Endopeptidase®, Mass Spectrometry Grade	E°	20μg×5	17,800

Ref: 2 ~ 10℃保存 E°: 20℃保存 30: 80℃保存 35: 150℃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、2016年7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。

がんの研究に



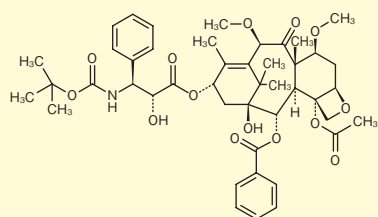
抗がん剤有効成分化合物

当社では、抗がん剤の有効成分化合物を多数品揃えしています。この度、品目を追加しました。

■ カバジタキセル

本品は、ヨーロッパイチの針状葉から抽出された10-デアセチルバッカチンⅢから半合成されたタキソイド系化合物です。チュープリンの重合を促進し、脱重合を阻害することにより、細胞分裂を阻害します。

- 外観：白色～わずかにうすい褐色、結晶性粉末～粉末
- メタノール溶状：試験適合
- 含量(HPLC)：98.0%以上

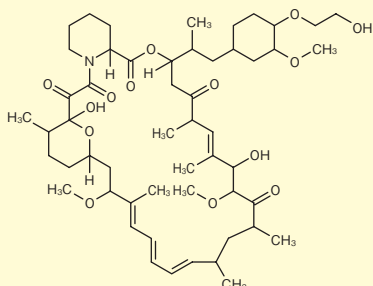


C₄₅H₅₇NO₁₄=835.93
CAS No. 183133-96-2

■ エベロリムス(異性体混合物)

本品は、ラパマイシンの誘導体であり、mTOR 阻害剤です。FK506 結合タンパク質-12 (FKBP-12) と結合して mTOR の活性を阻害することにより、腫瘍細胞のシグナル伝達を阻害し、腫瘍細胞の増殖を抑制します。さらに、腫瘍細胞からの VEGF の産生と VEGF による血管内皮細胞の増殖を抑制し、血管新生を抑制することにより、抗腫瘍作用を示すと考えられています。

- 外観：白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末
- アセトニトリル溶状：試験適合
- 含量(HPLC) (異性体混合)：97.0%以上



C₅₃H₈₃NO₁₄=958.22
CAS No. 159351-69-6

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
036-25081	Cabazitaxel	☑	薬理研究用 5mg	照会
058-09141	Everolimus (mixture of isomers)	☑	細胞生物学用 5mg	12,000
054-09143		☑	25mg	48,000

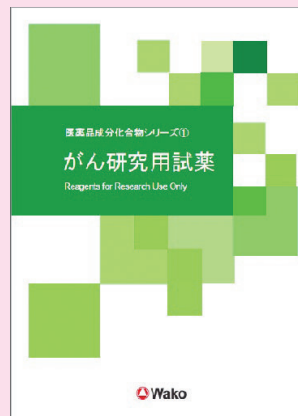
関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
タキソイド系化合物				
047-31281	Docetaxel	☑	薬理研究用 5mg	22,000
169-18616	Paclitaxel	☑	1mg	3,600
169-18611			5mg	7,000
165-18613			25mg	25,000
163-18614			100mg	70,000
mTOR阻害剤				
184-02531	Rapamycin (mixture of isomers)	☑	1mg	20,000
180-02533			10mg	54,000
188-02534			50mg	180,000
203-20131	Temsirolimus (mixture of isomers)	☑	5mg	13,000
209-20133			25mg	52,000
EGFRチロシンキナーゼ阻害剤				
048-32931	Dacomitinib	☑	1mg	13,000
044-32933			10mg	78,000
057-09111	Erlotinib Hydrochloride	☑	100mg	8,000
053-09113			500mg	32,000

医薬品成分化合物シリーズ① がん研究用試薬 パンフレットのご紹介

医薬品成分をはじめとするがん研究用試薬をまとめたパンフレットがございます。

ご希望の方は、当社営業員もしくは代理店にお問合せ下さい。



パンフレットは、当社 HP でもご覧頂けます。

http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/gan_kenkyu2/index.htm

☑…2～10℃保存 ☑…-20℃保存 ☑…-80℃保存 ☑…-150℃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、2016年7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。

TRPV4 アンタゴニスト

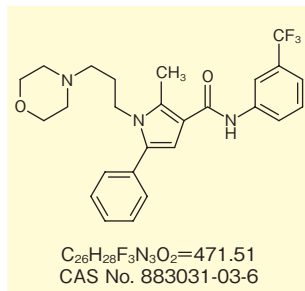


HC-067047

本品は、TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4) の強力なアンタゴニストです。TRPV4 は、低浸透圧で活性化される浸透圧感受性受容体として発見され、浸透圧感受性のほかに温度感受性も示します。TRPV4 が皮膚のバリア機能に関与していることが報告されています。

HC-067047 は、TRPV1、V2、V3 に対する阻害活性と比べて TRPV4 に対して少なくとも 100 倍高い活性を示します。また、hEGF 及び TRPM8 に対しても TRPV4 に対する活性の 1/10 程度の活性を示します。

- 外観：白色～わずかにうすい褐色、結晶性粉末～粉末
- エタノール溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
085-10281	HC-067047	細胞生物学用	10mg	35,000

関連商品

TRPV4 アゴニスト

コード No.	メーカーコード	品名	規格 / メーカー	容量	希望納入価格 (円)
073-06491	-	GSK1016790A	細胞生物学用	5mg	15,000
079-06493	-	GSK1016790A	細胞生物学用	25mg	60,000
166-26311	-	4 α -Phorbol 12,13-Didecanoate	細胞生物学用	1mg	14,500
162-26313	-	4 α -PDD	細胞生物学用	5mg	58,000
183-02981	-	RN-1747	細胞生物学用	10mg	10,000
189-02983	-	RN-1747	細胞生物学用	50mg	40,000

TRPV4 アンタゴニスト

コード No.	メーカーコード	品名	規格 / メーカー	容量	希望納入価格 (円)
-	5106/10	GSK2193874	Tocris	10mg	62,000
-	5106/50	GSK2193874	Tocris	50mg	262,000
518-91941	3746/10	RN 1734	Tocris	10mg	33,000
-	3746/50	RN 1734	Tocris	50mg	136,000
189-03181	-	Ruthenium Red	和光特級	100mg	6,000
185-03183	-	Ruthenium Red	和光特級	1g	23,500

※ Tocris 社の製品は、製造バッチによって水和の程度や塩が変更される場合がございます。正式な分子量・分子式は現品バイアルのラベルと添付データシートをご確認下さい。

TRPV4 抗体

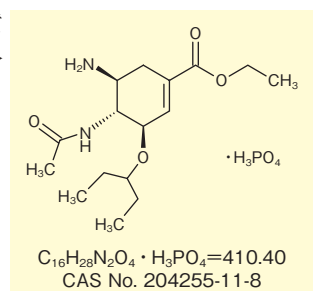
コード No.	メーカーコード	品名	規格 / メーカー	容量	希望納入価格 (円)
305-33611	KM119	Anti Mouse TRPV4 Polyclonal Antibody	(株)トランスジェニック	25 μ g (100 μ l)	49,000

インフルエンザウイルスの研究に Wako

オセルタミビルリン酸塩

本品は、ノイラミニダーゼ阻害剤です。インフルエンザウイルスはウイルスの表面に存在するノイラミニダーゼによって宿主細胞表面の糖鎖末端のシアル酸を切り離し、細胞から遊離することがわかっています。本品は、ノイラミニダーゼを阻害し、インフルエンザウイルスの細胞からの遊離を抑制することで、ウイルス増殖抑制作用を示します。

- 外観：白色～ごくうすい黄色、結晶性粉末～粉末または塊
- 水溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
153-03441	Oseltamivir Phosphate	薬理研究用	500mg	11,000
159-03443	Oseltamivir Phosphate	薬理研究用	5g	68,000

関連商品

ノイラミニダーゼ阻害剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
261-02151	Zanamivir n-Hydrate	薬理研究用	100mg	15,000
267-02153	Zanamivir n-Hydrate	薬理研究用	500mg	60,000

ノイラミニダーゼ蛍光プローブ

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
024-18011	BTP3-Neu5Ac-Na	細胞生物学用	1mg	11,000
020-18013	BTP3-Neu5Ac-Na	細胞生物学用	5mg	30,000

アルツハイマー病研究関連試薬

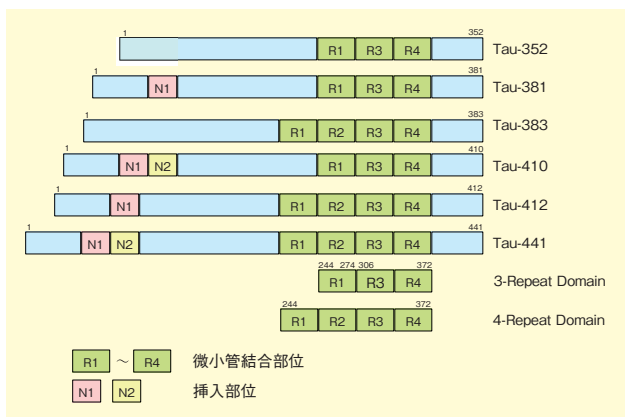
タウタンパク質, ヒト, 組換え体

抗タウ抗体シリーズ

タウは、微小管結合タンパク質の一つで、主に中枢神経系の神経細胞に発現しており、微小管の安定化を調節しています。また、40か所以上のリン酸化部位を有しており、分子同士が重合してオリゴマー、顆粒状凝集体、線維といったさまざまな形態を取ることが知られています。

アルツハイマー病脳では、アミロイドβタンパク質(Aβ)が蓄積した老人斑だけでなく、リン酸化タウタンパク質が蓄積した神経原線維変化が形成されることが知られています。この神経原線維変化は、その出現の程度が認知症の重症度と相関すると報告されており、アルツハイマー病の原因究明や治療薬開発のために研究されています。成人脳では6種類のアイソフォームが存在しており、微小管結合部位を3つ持つ3リピートタウ(3R-Tau)と4つ持つ4リピートタウ(4R-Tau)の2種類に分けられます。

当社では、6種類のアイソフォーム及び、2種類の微小管結合領域の組換え体と4種類のタウ抗体を取り揃えています。



■ タウタンパク質, ヒト, 組換え体

製品概要

- 形状：凍結乾燥品
- 凍結乾燥前バッファー：20mmol/l 重炭酸アンモニウム
- 宿主：大腸菌
- 備考：6×Hisタグ付加

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 204-20281	Tau-352 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 201-20291	Tau-381 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 204-20301	Tau-383 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 201-20311	Tau-410 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 208-20321	Tau-412 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 205-20331	Tau-441 Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 202-20341	Tau Protein 3-Repeat Domain, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000
NEW 209-20351	Tau Protein 4-Repeat Domain, Human, recombinant	細胞生物学用	100μg	40,000

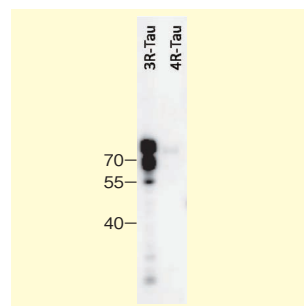
■ 抗タウ抗体シリーズ

製品概要

	3R-Tau 抗体	4R-Tau 抗体	リン酸化 Tau T181 抗体	リン酸化 Tau S199 抗体
コードNo.	016-26581	013-26591	016-26601	013-26611
概要	微小管結合ドメインを3つ有するTauアイソフォーム(Tau-410,381,352)を認識	微小管結合ドメインを4つ有するTauアイソフォーム(Tau-441,412,383)を認識	181番目のスレオニン(T181)がリン酸化されたTauを認識	199番目のセリン(S199)がリン酸化されたTauを認識
抗原	ヒトTau267-274, 306-313a.a.領域相同ペプチド	ヒトTauの273-291a.a.領域相同ペプチド	T181をリン酸化させたヒトTauの171-191a.a.領域相同ペプチド	S199をリン酸化させたヒトTauの189-209a.a.領域相同ペプチド
サブクラス	ラットIgG2b,λ	マウスIgG1,κ	ラットIgG2b,κ	ラットIgG2a,κ
交差性	ヒト	ヒト	ヒト	ヒト
クローンNo.	2A1-1F4	3E8-1A6	2E2-A6	5B8-1E2
適応	ウエスタンブロット 免疫沈降	ウエスタンブロット 免疫沈降	ウエスタンブロット 免疫組織染色 免疫沈降	ウエスタンブロット 免疫組織染色 免疫沈降

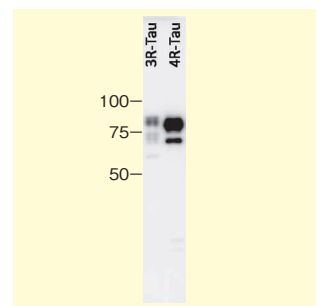
データ

■ 3R-Tau 抗体



3R-Tau特異的なバンドの検出が見られた。

■ 4R-Tau 抗体



4R-Tau特異的なバンドの検出が見られた。

[サンプル]

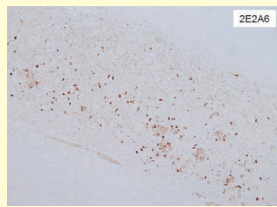
3R-Tau : mCherry-3R Tauを過剰発現させたNeuro2a細胞破砕液
4R-Tau : GFP-4R Tauを過剰発現させたNeuro2a細胞破砕液
アプライ量 : 25μg

(データご提供 : 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学 藤岡先生、石垣先生)

[次頁に続く]

冷蔵…2~10℃保存 冷蔵…20℃保存 冷蔵…80℃保存 冷蔵…150℃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、2016年7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。

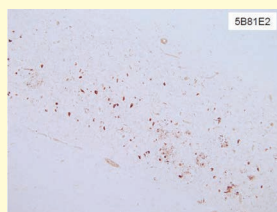
りん酸化Tau T181抗体



サンプル：アルツハイマー病患者の脳組織パラフィン切片

神経原線維変化（りん酸化Tau T181を含む）の染色
 (データご提供：同志社大学生命医科学部 医生命システム学科 神経病理学 宮坂先生)

りん酸化Tau S199抗体



サンプル：アルツハイマー病患者の脳組織パラフィン切片

神経原線維変化（りん酸化Tau S199を含む）の染色
 (データご提供：同志社大学生命医科学部 医生命システム学科 神経病理学 宮坂先生)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 016-26581	Anti 3R-Tau, Rat Monoclonal Antibody (2A1-1F4) [F°]	免疫化学用	50μl	30,000
NEW 013-26591	Anti 4R-Tau, Monoclonal Antibody (3E8-1A6) [F°]	免疫化学用	50μl	30,000
NEW 016-26601	Anti Phosphorylated Tau T181, Rat Monoclonal Antibody (2E2-A6) [F°]	免疫化学用	50μl	30,000
NEW 013-26611	Anti Phosphorylated Tau S199, Rat Monoclonal Antibody (5B8-1E2) [F°]	免疫化学用	50μl	30,000

関連商品

βアミロイドELISAキット

コードNo.	品名	検出感度 (pmol/L) [※]	標準曲線範囲 (pmol/L)	規格	容量	希望納入価格(円)
292-62301	Human βAmyloid(1-40) ELISA Kit Wako [Ref°]	0.12	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
298-64601	Human βAmyloid(1-40) ELISA Kit Wako II [Ref°]	0.019	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
298-62401	Human βAmyloid(1-42) ELISA Kit Wako [Ref°]	0.08	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
296-64401	Human βAmyloid(1-42) ELISA Kit Wako, High Sensitive [Ref°]	0.06	0.1-20.0	免疫化学用	96回用	90,000
294-62501	Human/Rat βAmyloid(40) ELISA Kit Wako [Ref°]	0.25	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
294-64701	Human/Rat βAmyloid(40) ELISA Kit Wako II [Ref°]	0.049	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
290-62601	Human/Rat βAmyloid(42) ELISA Kit Wako [Ref°]	0.19	1.0-100	免疫化学用	96回用	78,000
292-64501	Human/Rat βAmyloid(42) ELISA Kit Wako, High Sensitive [Ref°]	0.024	0.1-20.0	免疫化学用	96回用	90,000

※検出感度は、Std. 0OD+2SD (n=24) の濃度の代表例です。

老人斑・神経原線維変化特異的蛍光プローブ

コードNo.	品名	用途	規格	容量	希望納入価格(円)
029-16361	BF-168 [F°]	老人斑に比較的特異的なプローブ	細胞生物学用	1mg	15,000
026-16371	BF-170 [F°]	神経原線維変化に比較的特異的なプローブ	細胞生物学用	1mg	15,000
022-18811	BF-187 [F°]	老人斑・神経原線維変化を同一色で染色できるプローブ	細胞生物学用	1mg	25,000
025-18801	BF-188 [F°]	老人斑・神経原線維変化を別の色で染色できるプローブ	細胞生物学用	1mg	30,000

セクレターゼ阻害剤

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
β-セクレターゼ阻害剤				
115-00901	KMI-429 [F°]	細胞生物学用	1mg	45,000
112-00911	KMI-574 [F°]	細胞生物学用	1mg	45,000
119-00921	KMI-1027 [F°]	細胞生物学用	1mg	45,000
116-00931	KMI-1303 [F°]	細胞生物学用	1mg	45,000
γ-セクレターゼ阻害剤				
021-17781	BMS299897 [F°]	細胞生物学用	5mg	19,500
027-17783			25mg	79,000
043-33581	DAPT [F°]	細胞生物学用	5mg	21,000
049-33583			25mg	84,000
107-00161	JLK6	細胞生物学用	5mg	24,000
103-00163			25mg	96,000
121-06141	L-685,458 [F°]	細胞生物学用	1mg	50,000

医薬品成分化合物シリーズ③ 試験研究用 神経系作用剤 パンフレットのご案内

医薬品成分化合物で研究用試薬・神経系作用剤として使用されている化合物のパンフレットを発行しました。

ご希望の方は、当社営業員もしくは代理店にお問合せ下さい。



パンフレットは、当社 HP でもご覧頂けます。

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/iyakuhincatalog3/index.htm>

Ref°…2~10℃保存 [F°]…-20℃保存 [F°]…-80℃保存 [F°]…-150℃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、2016年7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。

ウエスタンブロッティング用ブロッキング試薬

Block-Pro™ 5×ブロッキングバッファー, プロテインフリー

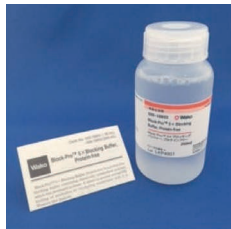
本品は、ブロッキング用に開発した化学合成ポリマーとトリス緩衝液を主成分とするプロテインフリーの5×ブロッキング試薬です。

タンパク質を含むブロッキング液では、抗体がタンパク質成分に非特異的に反応する場合がありますが、本品は合成ポリマーを使用しているため、抗体との相性によるバックグラウンドの上昇を抑制できます。

りん酸成分を含まないため、抗りん酸化タンパク質特異的抗体を用いた系にも使用できます。

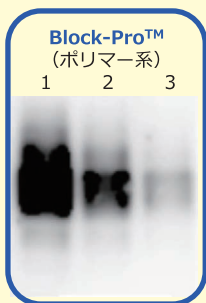
特長

- プロテインフリー
- 抗体との相性によるバックグラウンドの上昇抑制
- りん酸成分不含

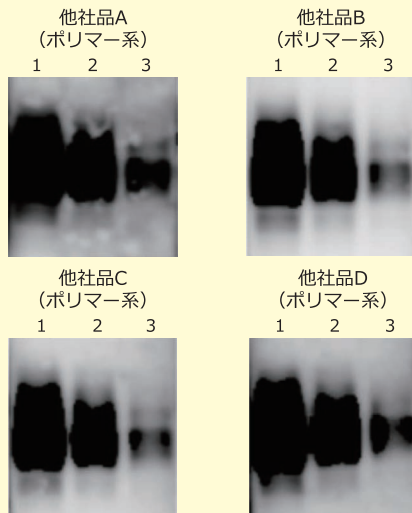


データ

Sf9細胞に発現させたDYKDDDDK融合糖タンパク質の検出

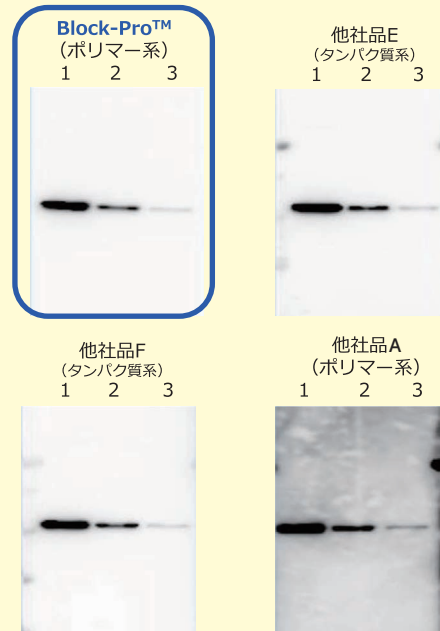


サンプル：DYKDDDDK 融合糖タンパク質を
発現させた Sf9 細胞ライセート
(Lane 1) 200 倍希釈
(Lane 2) 400 倍希釈
(Lane 3) 800 倍希釈
転写：0.8mA/cm² 定電流で 1 時間
ブロッキング：室温で 1 時間
一次抗体反応：1,000 倍希釈 (TBS-T),
冷蔵でオーバーナイト
二次抗体反応：30,000 倍希釈 (TBS-T),
室温で 4 時間



本品は、最もバックグラウンドが低かった。

DYKDDDDK-BAPの検出





サンプル：DYKDDDDK-BAP
(Lane 1) 10ng, (Lane 2) 2.5ng, (Lane 3) 0.6ng
転写：0.8mA/cm² 定電流で 1 時間
ブロッキング：室温で 1 時間
一次抗体反応：2,000 倍希釈 (TBS-T), 冷蔵でオーバーナイト
二次抗体反応：30,000 倍希釈 (TBS-T), 室温で 4 時間

本品のバックグラウンドは、他社品E、Fと同等であり、他社品Aよりも低かった。

使用方法

1. 本品を脱イオン水もしくはTBS-Tで5倍に希釈し、1×ブロッキングバッファーを調製する。
混合の際は5回ほど転倒攪拌する。
ミニゲル1枚(85mm×80mm)に14~20mlの1×ブロッキングバッファーを準備する。
2. 転写後のメンブレンを脱イオン水、TBS、TBS-Tなどで振とうしながら約1分間洗浄する。
3. トレイもしくはビニールバックにメンブレンを入れ、1×ブロッキングバッファーを加える。
4. 室温で1時間振とうし、ブロッキングする。
5. メンブレンをTBS-Tで振とうしながら5~10分間洗浄する。
6. 抗原抗体反応を行う。
抗体はTBS-Tでの希釈を推奨。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
022-18931	Block-Pro™ 5×Blocking Buffer, Protein-free 	免疫化学用	50ml (250ml分)	6,000
028-18933	Block-Pro™ 5×Blocking Buffer, Protein-free 	免疫化学用	250ml (1,250ml分)	22,000

[次頁に続く]

関連商品

左記データで使用した試薬

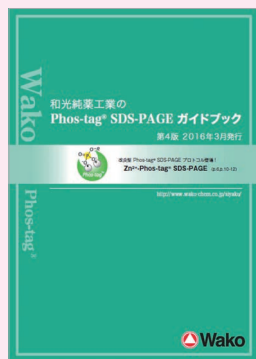
試薬	コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格(円)
サンプルバッファー	199-16132	Sample Buffer Solution with 3-Mercapto-1,2-propanediol (x2)	電気泳動用	25ml	7,700
ランニングバッファー	184-01291	Running Buffer Solution (x10)	電気泳動用	1ℓ	5,300
SDS-PAGEゲル	198-15041	SuperSep™ Ace, 10-20%, 17well	電気泳動用	10枚	14,000
メンブレン	033-22453	ClearTrans® SP PVDF Membrane, Hydrophobic, 0.2μm	ブロットイング用	1巻	37,000
	033-23813	ClearTrans® PVDF Membrane, Hydrophobic, 0.45μm	ブロットイング用	1巻	28,500
転写バッファー	015-26213	AquaBlot™ 10xHigh Efficiency Transfer Buffer	ブロットイング用	1ℓ	13,500
TBS-T	207-18061	TBS-T, pH 7.4 (x10)	ブロットイング用	1ℓ	9,200
一次抗体	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
標識二次抗体	564-72861	Peroxidase AffiniPure Donkey Anti-Mouse IgG (H+L)	JIR	0.5ml	40,800
化学発光試薬	297-72403	ImmunoStar® Zeta	ブロットイング用	1,000cm ²	30,000

JIR : Jackson Immuno Research Lab. Inc.

Phos-tag® SDS-PAGE ガイドブック 第4版発行

タンパク質をりん酸化レベルに応じて分離できる「Phos-tag® SDS-PAGE」ガイドブックの改訂版を発行しました。

- 改良型プロトコルが新登場
分離能が大幅に向上
- 応用例の紹介
ウエスタンブロットイング、質量分析、2D-PAGE など
- 最新の知見を追加
トラブルシューティングに最新の知見を追加



ご希望の方は、当社営業員もしくは代理店にお問合せ下さい。

当社HPでもご覧頂けます。http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/phos-tag/pdf/Acrylamide/2.pdf

ブタ皮膚由来



コンドロイチン硫酸Bナトリウム(デルマトン硫酸ナトリウム)

コンドロイチン硫酸は、動物組織に存在し、基本二糖の種類により、A、B、C、D、E、H、Kの7種類に分類されます。これらは、さまざまな細胞増殖因子や細胞外マトリックス成分と相互作用し、細胞接着、移動、増殖、分化、形態形成といった、多くの細胞活動に関与していると考えられており、機能が研究されています。

製品概要

- 外観：白色～わずかにうすい赤色、結晶～結晶性粉末または塊
- 水溶状：試験適合
- 含量（電気泳動法）：95%以上

【参考文献】

1) Hardingham, T. E. and Fosang, A.J. : *FASEB J.*, **6**, 861 (1992).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
031-24811	Chondroitin Sulfate B Sodium Salt, from Porcine Skin	細胞生物学用	25mg	15,000
037-24813	【Dermatan Sulfate Sodium Salt】		100mg	45,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
037-24391	Chondroitin Sulfate A Sodium Salt, from Chicken Cartilage	細胞生物学用	5mg	20,000
034-08801	Chondroitin Sulfate C Sodium Salt	和光特級	5g	4,900
032-08802			25g	13,000
032-14613	Chondroitin Sulfate C Sodium Salt	生化学用	5g	5,200
034-14612				25g
034-23061	Chondroitin Sulfate E Sodium Salt, from Squid Cartilage	細胞生物学用	2mg	20,000
087-04511	Hyaluronic Acid Sodium Salt, from Rooster Comb	生化学用	100mg	2,850
083-04513				1g
082-05041	Hyaluronic Acid Sodium Salt, from <i>Streptococcus Zooepidemicus</i>	生化学用	100mg	3,700
088-05043				1g
162-22131	Proteoglycan, from Salmon Nasal Cartilage	細胞生物学用	10mg	16,000
168-22133				50mg
085-08054	Heparin Lithium	生化学用	25,000units	4,600
081-08051			100,000units	10,500
087-08053			500,000units	37,000
085-00134	Heparin Sodium	和光特級	10,000units	2,550
081-00136			100,000units	4,600
081-00131			1,000,000units	29,800
087-00133			4,000,000units	94,000

Ref...2 ~ 10℃保存 F...- 20℃保存 S...- 80℃保存 H...- 150℃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、2016年7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。

組換え抗体やキメラタンパク質の研究に最適

pCAG-Fc (Fc 融合タンパク質発現ベクター)

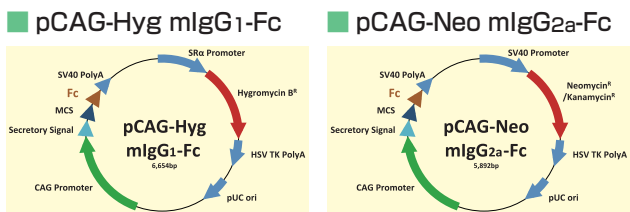
本品は、任意の Fc 領域を目的タンパク質の C 末端側に融合し、ほ乳動物細胞で一過性発現できるシャトルベクターです。MCS の N 末端側にインターロイキン 2 の分泌シグナル配列が、C 末端側にヒンジ配列を含む Fc 配列が挿入されています。Fc 領域は、hIgG1, mIgG1, mIgG2a, mIgG2b, rIgG2a, rIgG2b の 6 種類をラインアップしており、任意の Fc 領域を選ぶことができます。

Fc 融合キメラタンパク質は、元のタンパク質の活性を保ちながら、長い半減期、ほ乳類細胞発現系における高発現、プロテイン A や G で簡便に精製可能という特長を持つため、主にタンパク質の機能解析や組換え抗体の基礎研究に使用されています。

特長

- CAG プロモーターを持つ Fc 領域融合タンパク質発現ベクター
- 6 種類の Fc 領域をラインアップ
- 分泌シグナル挿入済み
- 多数の制限酵素を使用可能

ベクターマップ



使用可能な制限酵素

ベクター	Acc I	Bam HI	Cla I	EcoR I	EcoR V	Hind III	Pst I	Sal I	Sma I	Spe I	Xho I
pCAG-Hyg hlgG1-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Hyg mlgG1-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Hyg mlgG2a-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Hyg mlgG2b-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Hyg rlgG2a-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Hyg rlgG2b-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo hlgG1-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo mlgG1-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo mlgG2a-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo mlgG2b-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo rlgG2a-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pCAG-Neo rlgG2b-Fc	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 165-27741	pCAG-Hyg hlgG1-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 162-27751	pCAG-Hyg mlgG1-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 169-27761	pCAG-Hyg mlgG2a-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 166-27771	pCAG-Hyg mlgG2b-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 163-27781	pCAG-Hyg rlgG2a-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 160-27791	pCAG-Hyg rlgG2b-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 163-27801	pCAG-Neo hlgG1-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 160-27811	pCAG-Neo mlgG1-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 167-27821	pCAG-Neo mlgG2a-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 164-27831	pCAG-Neo mlgG2b-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 161-27841	pCAG-Neo rlgG2a-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000
NEW 168-27851	pCAG-Neo rlgG2b-Fc	F ^o 遺伝子研究用	20μg	75,000

関連商品

KANEKA KanCapA™

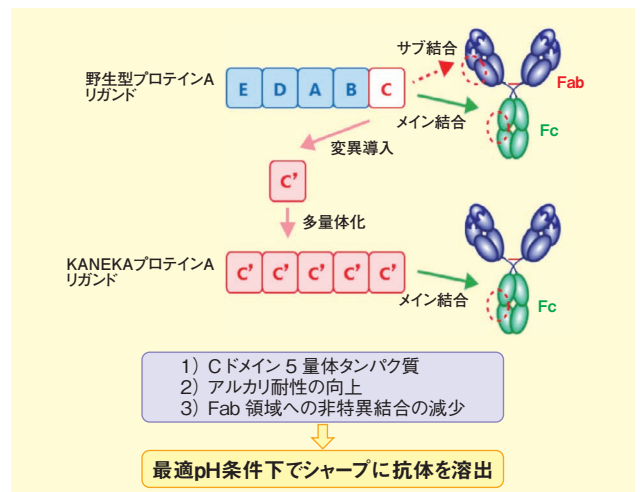
本品は、高架橋セルロースビーズと新規のアルカリ耐性プロテイン A リガンドから構成された、プロテイン A ビーズです。

組換え抗体や Fc 融合キメラタンパク質の精製には是非 KANEKA KanCapA™ をご使用下さい。

特長

- アルカリ耐性
- 溶出条件を最適化
- 高い抗体結合能
- リサイクル可能
- 容易にスケールアップ可能

■本品に使用しているプロテイン A(改変型プロテイン A)概要



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
114-01071	KANEKA KanCapA™	遺伝子研究用	2ml (net 1ml)	10,000
110-01073			10ml (net 5ml)	40,000
118-01074			50ml (net 25ml)	150,000

当社 HP にて、IgG 溶出プロファイルなど詳細をご紹介します。
<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/KanCapA/index.htm>

Refrigerated (2~10°C) storage, Frozen (-20°C) storage, Deep frozen (-80°C) storage, Ultra-deep frozen (-150°C) storage. Indicated storage conditions are for room temperature storage. Other abbreviations are referred to the manual. The content is as of July 2016. For the latest information, please refer to siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>).

安全に核酸を染色



SAFELOOK™ シリーズ

本シリーズは、低変異原性で安全性の高い核酸染色液で、エチジウムブロミド (EtBr) に代わる染色液として開発されました。

プレキャスト染色用、ポスト染色用、ローディングダイタイプをラインアップしています。ローディングダイタイプは光源照射下でリアルタイムに核酸を可視化することが可能です。

特長

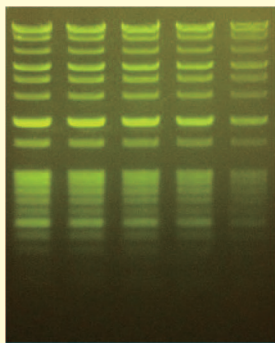
- 低変異原性
- 安価
- dsDNA, ssDNA, RNA を可視化*1
- UV トランスイルミネーター及びLED トランスイルミネーターに対応*2

*1 ロードホワイトはRNA染色に使用不可

*2 ロードホワイトはLEDトランスイルミネーターでは使用不可

使用例

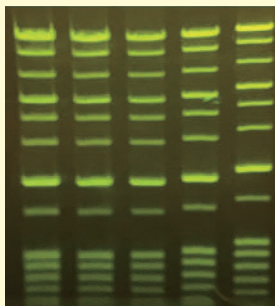
■ プレグリーン核酸染色液



SAFELOOK™ プレグリーン核酸染色液を 5µl/100ml の濃度で添加した 1.2% アガロースゲルを作製した。ランニングバッファー 200ml に 5µl のプレグリーン核酸染色液を添加し、電気泳動後、検出した。

サンプル: Gene Ladder Wide 2 (0.1-20kbp)
[コード No.310-06971]
左から 5µl, 4µl, 3µl, 2µl, 1µl を準備し、各々 5µl になるように脱塩水を添加後、全量をアプライした。
検出: LED トランスイルミネーター「ゲルみえーる」
[コード No.290-33891]

■ ロードグリーン (6×)



1.0% アガロースゲルを作製し電気泳動後、検出した。

サンプル: Gene Ladder Wide 2 (0.1-20kbp)
[コード No.310-06971]
左から 5µl, 4µl, 3µl, 2µl, 1µl を準備し、各々 5µl になるように脱塩水を添加した。次に 1µl の SAFELOOK™ ロードグリーンを各々に添加し (6倍希釈)、その全量をアプライした。
検出: LED トランスイルミネーター「ゲルみえーる」
[コード No.290-33891]

推奨用途

■ プレキャスト染色用、ポスト染色用
(アガロースゲル)

品名	プレキャスト染色		ポスト染色	
	LED	UV	LED	UV
プレグリーン	○	○	△	△
プレレッド	○	○	△	△
ポストグリーン	△	△	○	○

〈ポリアクリルアミドゲル〉

品名	プレキャスト染色		ポスト染色	
	LED	UV	LED	UV
プレグリーン	×	×	△	△
プレレッド	×	×	△	△
ポストグリーン	×	×	○	○

■ ローディングダイタイプ

サンプルに添加して使用します。

品名	アガロースゲル		ポリアクリルアミドゲル	
	LED	UV	LED	UV
ロードグリーン	○	○	○	○
ロードレッド	○	○	○	○
ロードホワイト	—	○	—	○

○: 推奨用途, △: 使用可能であるが条件検討が必要 (試薬量、核酸量、ゲルの厚さ、染色時間), ×: 推奨しない, —: 使用不可

コード No.	品名	励起 (nm)	蛍光 (nm)	対応サンプル			規格	容量	希望納入価格 (円)
				dsDNA	ssDNA	RNA			
NEW 192-18121	SAFELOOK™ Pre-Green Nucleic Acid Stain ^{Ref}	490	520 (DNA) 635 (RNA)	○	○	○	遺伝子研究用	50µl	3,000
NEW 198-18123	SAFELOOK™ Pre-Red Nucleic Acid Stain ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	500µl	10,000
NEW 199-18131	SAFELOOK™ Post-Green Nucleic Acid Stain ^{Ref}	490	525	○	○	○	遺伝子研究用	50µl	3,000
NEW 195-18133	SAFELOOK™ Post-Red Nucleic Acid Stain ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	500µl	10,000
NEW 196-18141	SAFELOOK™ Load-Green (6×) ^{Ref}	490	525	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 192-18143	SAFELOOK™ Load-Red (6×) ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 193-18151	SAFELOOK™ Load-White (6×) ^{Ref}	370	470	○	○	×	遺伝子研究用	1ml	8,000
NEW 199-18153	SAFELOOK™ Load-Green (6×) ^{Ref}	490	525	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 197-18154	SAFELOOK™ Load-Red (6×) ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 190-18161	SAFELOOK™ Load-White (6×) ^{Ref}	370	470	○	○	×	遺伝子研究用	1ml	8,000
NEW 196-18163	SAFELOOK™ Load-Green (6×) ^{Ref}	490	525	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 194-18164	SAFELOOK™ Load-Red (6×) ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 197-18171	SAFELOOK™ Load-White (6×) ^{Ref}	370	470	○	○	×	遺伝子研究用	1ml	8,000
NEW 193-18173	SAFELOOK™ Load-Green (6×) ^{Ref}	490	525	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000
NEW 191-18174	SAFELOOK™ Load-Red (6×) ^{Ref}	540	630	○	○	○	遺伝子研究用	1ml	13,000

Ref: 2~10℃保存 [F]: 20℃保存 [80]: 80℃保存 [150]: 150℃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、2016年7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。

アレクサンドル・ポルフィリエビチ・ボロディン (1833. 12. 12~1887. 2. 15)

京都薬科大学名誉教授 桜井 弘

ロシアの広大な情景を描いた音楽絵画『中央アジアの平原にて』、ロシア民族の叙事詩的物語のオペラ『イーゴリ公』の情熱的リズムの「ポロベツ人(ダッタン人)の踊り」あるいは『弦楽四重奏曲第2番』第三楽章の情緒豊かな「ノクターン」などを、耳にされた方が多いと思う。これら作曲したのは、帝政ロシアに生き、ロシア音楽五人組の一人であったアレクサンドル・ポルフィリエビチ・ボロディンである。ボロディンは、わが国では、ロシアを代表する音楽家の一人であることはよく知られているが、彼の職業は、医師、化学者そして教育者であり、フッ素化合物の合成、ボロディン反応、あるいはアルドール反応などの草分けの研究をした大学教授であったことは、あまり知られていないようだ。化学に誠実に向き合いつつ、内からほとばしる音楽的情熱を抑えきれず、生涯を化学と音楽との葛藤で生きた稀有なボロディンの生涯を紹介しよう。

1. ボロディンの生涯¹⁻⁴⁾

ボロディンの生涯をみる前に、ボロディンが生きた時代背景を簡単に見ておこう。広大なロシア領土に、ミハイル・フョードロビチ・ロマノフ(在位1613-1645)は1613年にロマノフ朝(1613-1917)を樹立し、農奴制と官僚制を基盤とする専制政治による強い帝国を目指した。1714年に即位した第5代大帝ピョートル1世(1682-1725)は、西欧化・近代化政策を取り入れヨーロッパ列強に加わり、首都をペテルブルグに定めた。ボロディンは、西欧化・近代化が進んだロマノフ朝の15代ニコライ1世(1825-1855)の時代に生まれ、16代アレクサンドル2世(1855-1881)と17代アレクサンドル3世(1881-1894)の統治下で生涯をおくった。ボロディンは、農奴制の下で生まれ、西欧化・資本主義が進む中、しかし革命の足音



図1. ボロディンの肖像
出典: Wikimedia Commons, free media repository (原作者: I. E. レーピン作) より引用

が遠くに響きはじめる時代にペテルブルグで生涯を過ごした(表1)。ロマノフ朝は、18代ニコライ2世(1894-1917)の時代にロシア革命が起り幕を閉じた。

幼少時代 1833年12月12日、サンクト・ペテルブルグで、公爵ルカ・スチーパーノビチ・ケーディアノフ(当時54歳)とその家政婦アブドーチヤ・コンスタンチーノブナ・アントノワ(当時24歳)との間に男の子が生まれた。当時の習慣により、公爵に仕える農奴の一人ポルフィリイ・イオン・ボロディンとその妻の子として出生届が出され、その子は父の農奴となった。アレクサンドル・ポルフィリエビチ・ボロディンである⁵⁾。父にはタタール人の血が流れ、ボロディンの風貌も東洋的エキゾティズムを感じさせる(図1)。

ボロディンは生まれて6年間は父の下で過ごしたが、その後は母アブドーチヤと暮らした。母は、ボロディンに家庭教師をつけ、諸外国語を学ばせ

た。幼少のころから、音楽に才能を示した。オルガン、ピアノ、フルート、チェロなどを演奏し、西洋音楽に親しみ、9歳の時にはボルカ『エレーナ』を作曲した。10歳になったとき、父は、息子を農奴から解放し自由の身にする署名をして亡くなった。13歳のときには、花火に興味を持ち、自宅に実験室をつくり、花火や絵の具を自作した。10歳前後から、ボロディンはすでに芸術的才能と科学的才能の片鱗を示していることは注目される。母の努力により、ボロディンは男子中等学校を修了し、父の希望であった内科・外科アカデミーに入学した。

学生時代 内科・外科アカデミーは、世界的に著名な教授陣を揃えていた。その一人に化学者ニコライ・ニコラエビチ・ジーニン(1812-1880)がいた。ジーニンは幅広い知識と高い見識を持ち、芳香環化合物を研究して、ニトロベンゼンからアニリンを合成する方法(ジーニン反応)を見つけ、ロシアのアニリン染料工業と有機合成化学の基礎を打ち立てた人物である。化学に関心を持っていたボロディンがジーニンの講義に引かれていったのは、当然の成り行きであった。ジーニンの研究室に通い、実験をさせてもらった。ジーニンもボロディンの才能を認め、自らの後継と考えたようだ。ボロディンは音楽活動や作曲にも情熱を注いでいたため、ジーニンは“二兎追うものは一兎も得ず”と忠告したという。ボロディンもまた、化学の仕事は天職と思い、ジーニンに継いでロシアの科学(化学)と文化(音楽)の発展に貢献する決意を持った。1855年、ボロディンは優秀な成績で内科・外科アカデミーを修了し、医師の資格を得た。翌年、第2陸軍病院の医師としての任務についた。しかし、この仕事になじめずにいたが、この間に、当時連隊将校であった音楽家ムソルグスキーと出会い、ボロディンにとって大きな出来事となった。1857年、ボロディンはア

表1. ボロディンの生涯

年号	年齢	時代・化学	音楽・代表的作品
1833.12.12	0	ベテルブルグで誕生・農奴ボロディンの子として入籍	
1842	9		幼少から音楽的才能発揮・作曲は始める
1843	10	父失う・遺言により、農奴から解放され自由の身となる	ポルカ エレーヌ
1846	13	花火に興味を持ち、自宅に実験室をつくる	ピアノ・フルート・チェロ・オーボエ・クラリネット演奏を習う
1850	17	ベテルブルグ大学の内科・外科アカデミーに入学(特別学生)	
1851	18	ジーニンの下で有機化学の実験・研究	
1953	20	[クリミア戦争~1956]	
1855	22	[アレクサンドル2世の大改革] 内科・外科アカデミーを卒業して、医師となる	
1856	23	第二陸軍病院の医師として勤務	ムソルグスキーと出会う
1857	24	医師活動をやめ、アカデミー化学講座の助手となる ヒドロベンズアルデヒドとアマリンの構造研究	
1858	25	医学博士論文(ロシア語)を提出して医学博士となる	
1859	26	アカデミーからヨーロッパ留学・ハイデルベルグのブンゼンを訪ね、同郷のメンデレーエフと会う	
1860	27	ジーニン、メンデレーエフとカールスルーエの第1回国際化学会議に参加 アルキルプロマイドの合成研究(ボロディン反応)	チェロソナタ 短調・ピアノトリオ 二長調 弦楽六重奏曲 二短調
1861	28	[農奴解放]フランス、イタリアを旅してハイデルベルグへ ピアニストのエカテリーナ・プロトポポワと会い、婚約	
1862	29	ボロディン反応発表 ・アカデミーの助教授(有機化学) フッ素化合物の合成研究(イタリア)	交響曲第1番 変ホ長調、ピアノ五重奏曲 短調 バラキレフと知り合う・ロシア五人組(力強い仲間たち)
1863	30	エカテリーナと結婚・ 塩化ベンゾイルからフッ化ベンゾイル合成	
1864	31	アカデミーの教授に就任(化学) バレルリアルデヒドの縮合反応の研究(アルドール反応)	
1868	35	第1回ロシア自然科学者・医師会議(ベテルブルグ)に参画 ロシア化学会の創設に参画(初代会長ジーニン)	
1869	36	メンデレーエフ 元素周期表を発表	交響曲第1番の初演成功(指揮 バラキレフ)
1870	37		オペラ「イーゴリ公」作曲に着手(完成まで20年)
1871	38		交響曲第2番 短調
1872	39	アルドール縮合の研究発表 ・女子医科コース開設	
1873	40	母失う・第4回ロシア自然科学者・医師会議に参加	
1874	41		弦楽四重奏曲第1番 長調
1875	42	ジーニン引退・後任を引き継ぐ・女子医科大学創設に関与 尿中の窒素の新定量法の研究	イーゴリ公の作曲再開・リストに励まされる 貧困学生に慈善音楽会開催
1878	45	尿素中の窒素定量法を発表 ・ロシア国民健康協会設立に関与	小組曲全7曲 (1885年に完成)
1879	46	第6回自然科学者・医師会議(ベテルブルグ)に尽力・名誉会員	
1880	47	恩師ジーニン亡くなる・追悼講演	音楽絵画 中央アジアの平原にて ・ロシア音楽協会正会員
1881	48	[アレクサンドル2世暗殺] 内科・外科アカデミーは軍医科大学に名称変更	ムソルグスキー死去・ 弦楽四重奏曲第2番 二長調
1882	49		スケルツォ 変二短調
1883	50	政府と大学関係の仕事で多忙	ロシア音楽協会会長
1885	52	女子医科大学閉鎖・ジーニン没後5周年記念碑除幕式開催	スケルツォ 変イ長調 ・サンサーンスと親しくなる
1886	53	尿素定量法の簡素化の研究 ・モアッサン フッ素ガスの単離	スペイン風セレナード 二短調
1887.2.15	54	謝肉祭後の仮面舞踏会中に急逝	アレクサンドル・ネフスキー墓地に埋葬 交響曲第3番 短調 (グラスノフが完成させる)
1890			未完のオペラ イーゴリ公 をリムスキー・コルサコフとグラスノフが完成させ、ベテルブルクのマリンスキー劇場で初演

(年号は現行の太陽暦で表示)

カデミーの化学講座の助手に任命され、化学の道を本格的に進むこととなった。

内科・外科アカデミー時代 研究を開始してまもなく、ボロディンは、化学的・毒性学的観点から学位論文『人の組織に対するヒ酸とリン酸の作用の類似性』を仕上げ、1858年に医学博士の学位を得た。今日でこそ、リンとヒ素は元素周期表の第15族元素として類似性と相違性が知られている

が、当時はまだ将来朋友となるドミトリー・イヴァノビッチ・メンデレーエフ(1834 - 1907)による『元素周期表』が発表されていない状況の中で、二つの酸の化学的・生物学的類似性を指摘したことは、ボロディンの研究への鋭さを感じさせる。ボロディンは二兎を追っているのではなく、真の仕事は化学研究であると確信を深める一方、余暇として音楽活動を続け、多くの友を得ながら音楽芸術へ身を捧げていっ

た。ジーニンの信頼の厚いボロディンは、1859年10月ハイデルベルグへと出発し、3年間の留学生生活を体験した。ブンゼンの研究室では、同郷のメンデレーエフをはじめ多くの化学者と会い、親交を深め、エルレンマイヤーの研究室で仕事をした。この3年間には、ボロディンにとって素晴らしい出来事が二つあった。ひとつはジーニンとメンデレーエフの3人で1860年9月にカールスルーエで開催された第1

回国際化学会議に出席したことであった。ケクレの化学構造式とベルセーリウスの原子量表の重要性が確認され、有機化学と無機化学において実りの多い会議であり、ポロディンとメンデレーエフがこの経験を共有できたことは、二人のその後の研究生活に大きな影響を与えることとなった。もうひとつは、ハイデルベルグで才能あふれるピアニスト エカテリナ・セルゲエブナ・プロトポーポアにめぐり合ったことである。彼女は、結核治療のために寒いモスクワからハイデルベルグへ来ていたのである。3ヶ月後に、二人は婚約した。エカテリーナの病気はなかなか回復せず、一時はイタリアへ移った。その間、ポロディンはフッ素化合物の研究をした。1862年、ペテルブルグに戻ったポロディンは、アカデミーの助教授となり、有機化学を担当した。作曲家バラキレフとも知り合い、ロシアでは『力強い仲間たち』と言われる音楽集団五人組⁶⁾のメンバーとなり、ポロディンは作曲家としての道も進むこととなった。翌年、エカテリーナと結婚し、1864年には、定年退職したジーニンの後継者として正教授に昇進し、化学講座の教授となった。アルデヒドの研究を進め、成果を上げていった。学会や大学運営にも力を注ぎ、自然科学者・医師会議を開催し、1868年にはロシア化学会の創設にも加わった。一方、女子の高等医学教育にも力をいれた。1875年、ジーニンが引退し、研究室の運営はポロディンが担当することとなり、ますます忙しくなった。

晩年 1878年から、最後の研究となる尿素中の窒素の研究に着手した。しかし、1880年、恩師のジーニンが亡くなり、翌年にはアレクサンドル2世が暗殺され、ロシア帝国は反動政策をとるようになった。内科・外科アカデミーは軍医科大学と改称され、長年苦勞してつくった女子医科コースが廃止に追い込まれた。そんな苦しい中、

ポロディンは、雄大な音楽絵画『中央アジアの平原にて』や愛妻に捧げる情趣あふれる『弦楽四重奏曲第2番』を作曲している。心の安らぎを求めて作曲したものと思われる。そして1883年には、ロシア音楽協会の会長に選ばれ、名実ともに科学と芸術を両立させた。

長年の多くの苦勞や疲労が蓄積していたのであろうか、1887年2月15日、謝肉祭後の仮面舞踏会の最中、ポロディンは冠状動脈の破裂で帰らぬ人となった。54歳であった。アレクサンドロ・ネフスキー墓地のムソルグスキーの隣に埋葬された。5ヶ月後に、妻のエカテリーナも亡くなった。ポロディンの没後3年、完成を幾度も試み、大学運営などで完成できなかったオペラ『イーゴリ公』は、友人のリムスキー・コロサコフとグラズノフの手で完成され、1890年10月23日にマリンスキー劇場で初演された。

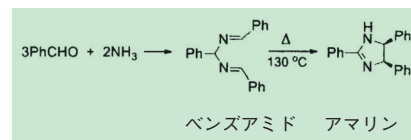
2. 化学者ポロディンの研究成果^{1-4, 7-10)}

ポロディンは医師として研究生活をはじめたがジーニンの影響の下で化学領域に多くの成果を残している。論文は、ロシア語、ドイツ語、フランス語およびイタリア語で書かれ、論文数は42報ある。論文目録は、文献2, 7を参照されたい。ポロディンは時代を先取りした最先端の新しい研究をしている。彼の洞察力の確かさと情熱が感じ取られる。ポロディンの代表的な研究成果の概要を紹介しよう。

(1) ベンズアルデヒド関連

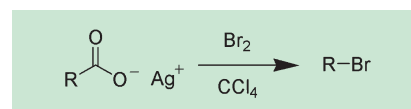
ポロディンは、苦扁桃油のベンズアルデヒドや吉草酸に興味を持ち、最初の論文を著している。ベンズアルデヒドにアンモニアを作用しヒドロベンズアミドを得て、さらにそれを加熱してアマリンを得た。それらの化学構造を明らかにするため、ヨウ化エチルを作用して、NH基の数を

調べたが、ヨウ化物の構造については結論を得ていない。



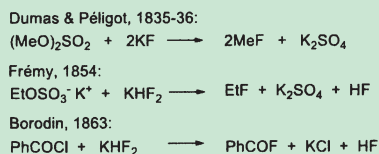
(2) ポロディン反応の発見

ポロディンは、1836年に報告されていた方法で、有機酸の金属塩と臭素蒸気を用いて2-プロモ酪酸や2-プロモ吉草酸を作ろうとしたが、蒸留すると分解してしまった。そこで、酢酸銀と臭素蒸気とを反応させると臭化銀、炭酸ガスおよび臭化メチルが生成することを見出した。この成果は1860年に発表されたが、長い間知られることはなかった。有機酸の銀塩から臭化アルキル化合物を合成する一般的な方法は、1942年に見出されたHansdiecker反応がよく知られている。ポロディンが82年も前に発表していたことは、ごく最近知られるようになった。Hansdiecker反応はBorodin反応ともよばれている。



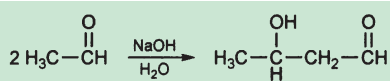
(3) フッ素化合物の研究

エカテリーナの病氣療養のため、イタリアのピサに移ったポロディンは、化学者ルカとタシナリの歓迎を受け、そこに滞在した。高価な白金製蒸留器がある立派な実験室で、彼はフッ素化合物の研究をする。有機化合物へのフッ化水素カリウム KHF_2 の反応性を研究し、フッ化ベンゾイルを初めて合成した(1862, 1863)。この成果は最初の有機フッ素化合物の合成と言われてきたが、実は1836年と1854年にすでにフッ化メチルやフッ化エチルの合成が報告されているので、ポロディンが最初の研究者ではなかった。



(4) アルデヒド関連—アルドール反応の幕開け

ボロディンはアルデヒドの性質を調べるため、吉草酸アルデヒドとナトリウムとの反応の研究を開始した(1864 - 1872)。この反応は決して簡単なものではなく、様々な化合物とともにアルコール ($\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{OH}$) が得られた。実は、このアルコールはアルデヒド体が2分子で縮合し還元を受けたものであったが、ボロディンは詳しく調べなかった。その後、彼はヒマシ油の研究に移り、それを熱分解してヘプタナール(炭素数7の直鎖状アルデヒド)と有機酸を得た。これに関連して、アセトアルデヒドと塩酸の反応を調べ、アルドール化合物¹¹⁾が出来ることを見出した。この反応は、同じ年にフランスのビュルツによって報告され、彼の業績はよく知られている。ケクレもまたアルデヒドの縮合反応を研究したが、発表は遅れた。ケクレとボロディンの論争については、文献9)に詳しく記載されている。このようにアルドール反応の発見についてはややこしいものがあるが、アルドール反応のその後の有機合成化学での大発展を考えると、ボロディンはその最先端を走っていたこととなる。ロシア語での報告は、ヨーロッパ化学界では認識されにくい状況にあったようだ。



(5) メディシナルケミストリー関連

晩年のボロディンは、尿中の尿素有量の定量について興味を持って研究した。尿素を次亜臭素酸ナトリウム

NaOBr で酸化して窒素量を測定する新しい方法を報告した。また、クリロフと共同研究して、心臓脂肪中のコレステロールをエステル化して定量する方法を発表した。しかし、この定量法は当時注目されなかった。今日の日からみれば、この方法は重要であるにもかかわらず、1871年のこの成果は時代を先取りし過ぎていたようだ。さらに、茶の分析法や下等動物への過酸化水素の影響、また消毒におけるオゾンの意義などを研究した。

人間の脳は、左右で異なった働きをしていることが20世紀後半から研究されている。左脳は、ロゴス脳=言葉脳として言葉、論理、計算を担当し、右脳は、パトス脳=音楽脳として非言語を感覚すると考えられている。化学と音楽を生涯通して愛してやまなかったボロディンは、左脳と右脳を存分に発揮して、化学と音楽を両立・開花させたと思われる。ところで、20世紀終りころ、日本人はロゴスもパトスもともに左脳が担当し、右脳はイメージ脳として機能し、イメージしたことは右脳に配置・記憶しているという新しい考え方が提案された。わが国の宮沢賢治は、自らを科学者といい、そして素晴らしい詩=心象スケッチや童話を創作した¹²⁾。賢治はイメージ脳を発揮していたのだろうか。ボロディンの風貌は東洋系を連想させるので、彼もまたイメージ脳を使い、化学と音楽を創作したのではないかと想像したくなる。ボロディンの美しい音楽を聴きながら、彼の生涯と化学に思いを馳せていただければ幸いである。

【参考文献とノート】

- 1) A・ゾーリナ著、佐藤保彦訳：「ボロディン その作品と生涯」(新読書社)(1994)。

- 2) 都築洋次郎：「化学者としてのBORODIN」, 科学史研究Ⅱ, **18**, 148 (1979)。
 3) 都築洋次郎：「化学者としてのロシアの名作曲家ボロディン」, 化学教育, **34**, 192 (1986)。
 4) Getman, F. H.: "Alexander Borodin-Chemist and Musician", *J. Chem. Educ.*, **8** 1763 (1931)。
 5) ロシアでは、正式氏名は、名前・父称(接尾語をつける)・姓の三つからなる。
 6) ロシア五人組「力強い仲間たち」は、1867年にスターツフがバラキレフグループをそう呼んだことに由来している。メンバーは、次の五人からなる。ミリイ・バラキレフ(1837-1910)、ツェーザリ・キューイ(1835-1918)、モデスト・ムソルグスキー(1839-1881)、アレクサンドル・ボロディン(1833-1887)、ニコライ・リムスキー=コルサコフ(1844-1908)。
 7) Friedman, H. B.: "Alexander Borodin-Musician and Chemist", *J. Chem. Educ.*, **18**, 521 (1941)。
 8) White, A. D.: "Alexander Borodin: Full-time Chemist, Part-time Musician", *J. Chem. Educ.*, **64**, 326 (1987)。
 9) Gordin, M.D.: "Facing the Music: How original was Borodin's chemistry", *J. Chem. Educ.*, **83**, 561 (2006)。
 10) Halton, B.: "Alexander Porfirevich Borodin (1834-1887)", *Chem. New Zealand*, **78**, 41 (2014)。
 11) アルドール反応は、酸または塩基触媒の存在下で、 α 位に水素を持つカルボニル化合物とアルデヒドまたはケトンとが反応して β -ヒドロキシカルボニル化合物が生成する求核付加反応のひとつである。アルデヒド同士の場合にはアルドールを生成するため、この名でよばれている。
 12) 桜井 弘：「宮沢賢治は化学とどう向きあったか? - 作品から読み取る賢治の化学観」, 化学, **70**, 52 (2015)。

誰でも簡単に初代神経細胞の培養が可能



神経細胞関連試薬

当社の神経細胞関連試薬は、一般的に困難とされているラット、マウスの神経組織からの細胞分散と初代神経細胞培養を誰でも簡単にできることをコンセプトとした商品です。この度、住友ベークライト株式会社から技術協力を得てこれらを商品化しました。同社の神経細胞用培養液、凍結神経細胞シリーズ、神経細胞用分散液の後継品です。

特長

■ 神経細胞用培地

- 神経突起の伸展に優れ、シナプス形成、情報伝達などの電気生理研究などに適している
- 低密度培養が可能で単一ニューロンの解析に適している

■ 凍結神経細胞シリーズ

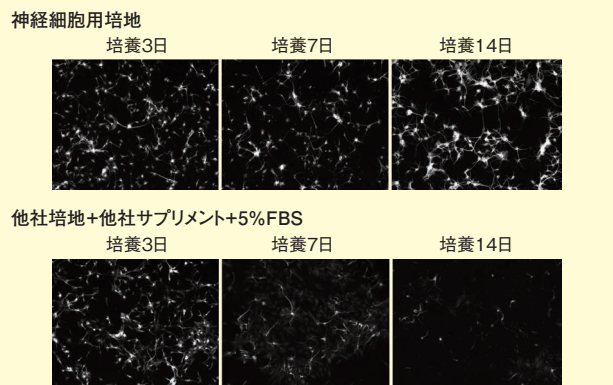
- 脳組織を凍結保存しているため、動物の解剖が不要
- 神経細胞用分散液、神経細胞用培地と組合せて簡単に神経細胞の培養が可能

■ 神経細胞用分散液

- 単離後の神経細胞の生存率が高い
- 誰でも簡単に安定して神経細胞の単離が可能

使用例

■ 生存維持活性評価：神経突起伸展確認(MAP 2免疫染色)



細胞数：6.6×10⁵cells/ml (妊娠 18 日目マウスの胎児小脳より分散)
 培養スケール：500μl/dish (ガラスボトムディッシュ)
 培養条件：培養 3 日目、7 日目に培地半量交換、3 日目より Ara-C 2μmol/l 添加

本品が神経突起の伸展に優れていることが確認できた。
 (データご提供：東京慈恵会医科大学 再生医学研究部 岡野ジェームス洋尚先生、小川優樹様)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)	対応住友ベークライト社コード No.
神経細胞用培地					
148-09671	Neuron Culture Medium	細胞培養用	100ml	50,000	MB-X9501
凍結神経細胞シリーズ					
030-24881	Cerebral Cortex, from Mouse (embryonic day 15)	細胞培養用	2胎児/本	43,800	MB-X0305
033-24871	Cerebral Cortex, from Rat (embryonic day 17)	細胞培養用	2胎児/本	50,000	MB-X0304
036-24861	Cerebral Striatum, from Rat (embryonic day 17)	細胞培養用	2胎児/本	50,000	MB-X0505
082-10291	Hippocampus, from Mouse (embryonic day 16)	細胞培養用	2.5胎児/本	56,300	MB-X0403
085-10301	Hippocampus, from Rat (embryonic day 19)	細胞培養用	2.5胎児/本	62,500	MB-X0402

コード No.	品名	規格	容量	セット内容	希望納入価格(円)	対応住友ベークライト社コード	
神経細胞用分散液							
291-78001	Neuron Dissociation Solutions	細胞培養用	4 セット	酵素液	5.0ml×4本	31,100	MB-X9901
				分散液	5.0ml×4本		
				除去液	5.0ml×4本		
297-78101	Neuron Dissociation Solutions S	細胞培養用	10 セット	酵素液	2.5ml×10本	50,000	MB-X0801
				分散液	2.5ml×10本		
				除去液	2.5ml×10本		

F…2～10℃保存 F…-20℃保存 F…-80℃保存 F…-150℃保存 表示がない場合は室温保存です。
 特定 毒…特定毒物 毒…毒物 劇…劇物 毒…毒薬 劇…劇薬 危…危険物 精…向精神薬 特…特定麻薬向精神薬原料
第1…化審法 第一種特定化学物質 第2…化審法 第二種特定化学物質 化兵1…化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2…化学兵器禁止法 第二種指定物質 カ…カルタヘナ法
覚…覚せい剤取締法 国保…国民保護法
 掲載内容は、2016年7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. 84 No. 3
 2016年7月15日発行
 発行責任者 上田 衡
 編集責任者 鎌田裕子
 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