

ClearSeeにより透明化したためしべ

〔総説〕

「植物組織透明化試薬 ClearSee の開発」	栗原 大輔……………	2
「高性能ホスフィン配位子：Silica-SMAP」	三宅 寛……………	6
〈テクニカルレポート〉		
「シリカゲル 40F ₂₅₄ TLC プレート - ワコーの開発と分離精製システムへの応用」	柴田 剛志……………	9
「高性能 Bisulfite 法の開発」	林田 幸信……………	12

〔製品紹介〕

有機合成

Silica-SMAP ……………	8
有機合成用 シリル系保護基 ……………	18
リチウムビス (フルオロスルホニル) イミド ……………	19

環境・分析

シリカゲル 40F ₂₅₄ TLC プレート - ワコー……………	11
メチル化カテキン標準品 ……………	19
ポジティブリスト関連 農薬標準品 ……………	20
局方一般試験法用 水酸化カリウム・エタノール液 ……………	20

遺伝子

エピサイト™ バイサルファイトコンバージョンキット Ver.2、 エピサイト™ BisulTaq™ DNA ポリメラーゼ、組換え体、 溶液 Ver.2 ……………	14
ScreenFect™ シリーズ、SFA P-reagent Data ……………	15
Ni-NTA カートリッジ ……………	22

免疫

プロテイン A, 組換え体、プロテイン G, 組換え体 ……………	21
抗 Iba1, モノクローナル抗体 (NCNP24) ……………	28

細胞生物

植物透明化試薬「ClearSee™」……………	5
アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害剤……………	24
アリスキレンヘミフマル酸塩 ……………	24
シルニジピン……………	25
ゾレドロン酸一水和物……………	25

病理

プロテイン銀 ……………	23
--------------	----

培養

発生に関わるサイトカイン ……………	26
CultureSure® エタノール ……………	27
KY03-I 心筋細胞誘導法用 心筋分化培地 ……………	27

〔お知らせ〕

第 5 回 IIS シンポジウム・第 32 回 Wako ワークショップ 合同シンポジウム開催のご案内 …………… 21

はじめに

蛍光タンパク質のめざましい発展により、今日では細胞やオルガネラだけではなく、タンパク質一分子までも蛍光タンパク質で標識して可視化できるようになっている。可視化された細胞やオルガネラ、分子の挙動を観察することで、生物のからだの成り立ちや構造、機能が解析されている。しかし、植物細胞はさまざまな自家蛍光物質を持っているため、無傷のまま、植物内部に存在する細胞の蛍光タンパク質を観察することは未だ難しいのが現状である。さらに、植物組織は屈折率の異なるさまざまな成分（空気 1.00；細胞壁 1.42；細胞質 1.36）で構成されるため、屈折率のミスマッチにより光の散乱が引き起こされる。そのため、これまで植物組織の内部を高解像度で観察するためには、機械的に組織を切断して作製した切片を観察するしか方法はなかった。しかし、切片から三次元構造を再構築するためには、膨大な数の連続した切片を欠かすことなく作製し観察しなければいけないため、熟練した技と根気のいる作業が必要であった。そのため、切片を作製せずに無傷のまま観察するために、古くから種々の化合物を用いて、植物組織を透明化する手法が用いられてきた。19世紀後半から標本の保存に用いられている抱水クロラルは、高い屈折率（1.428）をもち、種々の植物組織を透明化できるため、植物内部の細胞を観察するために用いられてきた。しかし、抱水クロラルは蛍光タンパク質を消光してしまうため、蛍光タンパク質と組み合わせて観察することはできなかった。

近年、脳研究分野において、屈折率ミスマッチを解消したり、着色成分を除くことで、組織を透明化できるさまざまな化合物混合溶液が開発されている。開発されている透明化試薬は水溶液であり、蛍光タンパク質の蛍光

を保持しながら透明化することに成功している。開発の口火を切ったのが、理化学研究所の宮脇博士らが開発した Scale である。尿素、界面活性剤、グリセロールからなる Scale 溶液は、蛍光タンパク質の蛍光を保持しながらマウス脳の透明化に成功した。Scale 処理したマウスの脳は、共焦点レーザー顕微鏡を用いて表面から 1.6 mm の内部まで観察可能である¹⁾。高濃度のフルクトース水溶液である SeeDB は、界面活性剤や変性剤を含まずに、屈折率ミスマッチを解消し、マウス胚や脳を透明化することに成功している²⁾。Scale はマウス脳の透明化に 2 週間処理時間が必要であるが、SeeDB は 3 日間に短縮できる。2015 年に発表された CUBIC は、Scale を改良した透明化試薬で、マウスの脳だけではなく全身の透明化まで成功している^{3,4)}。Susaki らは透明化試薬の構成成分を化合物スクリーニングすることにより、アミノアルコールが透明化活性の高い化合物であることを発見した³⁾。さらにアミノアルコールは血液のヘム色素を除去する作用も持っていたため、全身の透明化に繋がった⁴⁾。このように、数々の透明化試薬が登場し、今も開発が続いている現状であるが、植物組織にこれらの透明化試薬をそのままでは用いることはできなかった。動物には動物特有の、植物には植物特有の組織、細胞から構成され、それぞれ蛍光観察を妨げる自家蛍光物質も異なっているため、新たに植物用に最適化した透明化試薬を開発する必要があった。

ClearSee の開発

そこで我々は蛍光タンパク質の蛍光を保持しながら、植物組織を透明化できる試薬を開発するために、化合物スクリーニングを行った。ターゲットにしたのが、クロロフィルによる自家蛍光である。Scale や CUBIC で用いら

れる透明化試薬は、多価アルコール・界面活性剤・尿素から構成される。そこで、緑色の葉からクロロフィルの自家蛍光を取り除くことができる化合物を、多価アルコール・界面活性剤・尿素を含む 24 種の化合物から探索した。

シロイヌナズナの葉を 7 日間、それぞれの化合物水溶液に浸して、葉から溶出したクロロフィル自家蛍光を測定した結果、デオキシコール酸ナトリウム、N-ドデカノイルサルコシン酸ナトリウム、Tween 20、ノニドット P-40、ドデシル硫酸リチウム (LDS)、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、N,N-ジメチルホルムアミドといった界面活性剤が高い溶出活性を示した。これらの化合物の蛍光タンパク質への影響を解析した結果、LDS は蛍光タンパク質を完全に消光し、Tween 20 と SDS は 6~7 割にまで蛍光が減少してしまっただけで、それ以外の化合物では蛍光タンパク質の蛍光は保持されていた。次に、界面活性剤に加えて多価アルコールの透明化効果を評価するために、界面活性剤・多価アルコールの組み合わせでスクリーニングを行ったところ、デオキシコール酸ナトリウム、N-ドデカノイルサルコシン酸ナトリウムを含む混合溶液が高い透明化活性と蛍光タンパク質保持性を示した。最後に尿素を加えてスクリーニングを続けた結果、キシリトール、デオキシコール酸ナトリウム、尿素の組み合わせが最も高い透明化活性と蛍光タンパク質保持性を示したことより、この混合溶液を植物透明化試薬「ClearSee」と名付けた⁵⁾。

ClearSee による植物組織の透明化効果を評価するために、PBS、抱水クロラル透明化液、Scale、ClearSee で 4 日間、葉を処理した結果、Scale 処理葉は緑色が残っているが、ClearSee 処理葉ではクロロフィルがなくなり透明になった (図 1)。この透明度は、抱水クロラル透明化液処理と同等であった。

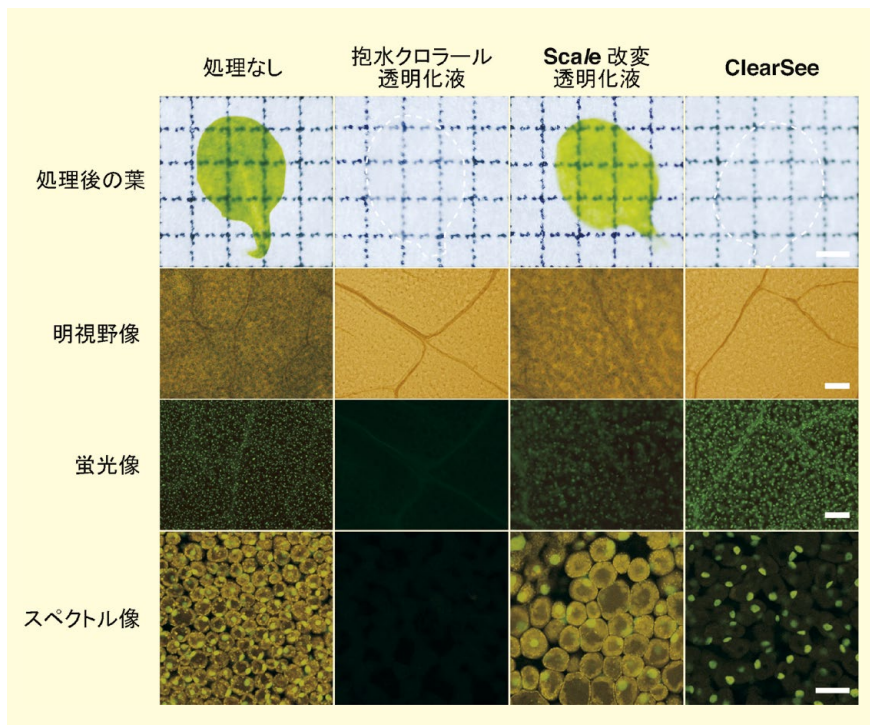


図1. 各種透明化液で4日間処理したシロイヌナズナの葉
 処理後の葉と明視野像で緑色に見えるのがクロロフィルである。蛍光像では、細胞核を蛍光タンパク質で標識しているため、粒状に観察される。スペクトル像で橙色に見えるのがクロロフィルの自家蛍光である（スケールバーは上段：1 mm、中・下段：30 μm）。文献5より改変。

また、蛍光タンパク質への安定性を評価するために、核を緑色蛍光タンパク質 Clover (H2B-Clover) で標識した葉を、それぞれの透明化液で4日間処理したところ、Scale 処理葉においては、PBS 処理と同等にしか H2B-Clover の蛍光は観察できなかった。これはクロロフィルがあまり除かれていないのが要因だと考えられる。また、抱水クロラル透明化液で蛍光タンパク質の蛍光は消失してしまった。一方、ClearSee 処理した葉を観察したところ、表面の細胞だけではなく、内部にある維管束の細胞核も全て検出できるほどの透明度を達成した。図1下段はスペクトルイメージングにより葉の細胞を観察したものだが、PBS と Scale 処理細胞では細胞の周縁部にオレンジ色のクロロフィル自家蛍光が検出されるが、ClearSee 処理細胞では検出されず、緑色の H2B-Clover のシグナル

だけが検出された。一方、抱水クロラル透明化液処理細胞では、クロロフィル自家蛍光も H2B-Clover の蛍光も消失している。このように、ClearSee によりクロロフィルを除去し、植物を丸ごと透明化することで、植物を切断することなく内部まで蛍光観察することが可能となった。

ClearSee による多色蛍光観察

ClearSee は緑色以外の蛍光タンパク質の蛍光も保持したまま透明化が可能である。図2は全身の細胞核を橙色蛍光タンパク質で、植物ホルモンであるオーキシシンに応答している細胞核を黄色蛍光タンパク質で標識したシロイヌナズナの根の観察像だが、ClearSee 処理した根でも、生きたままの根と同様に、オーキシシン応答などの遺伝子

発現パターンは保持したまま、透明化されていることが分かる。また、ClearSee 処理したサンプルの蛍光シグナルが強く検出されており、透明化することによって光の散乱が抑えられ、蛍光タンパク質を光らせる励起光も、蛍光タンパク質から発した蛍光も無駄なく利用することができると言える。そのため、発現量の少ないタンパク質を観察するのも適しており、また励起光を弱くしても観察できるので、サンプルにダメージの少ない蛍光観察が可能となる。

このようにさまざまな色の蛍光タンパク質を利用すると、細胞核と細胞膜など違う細胞内構造を区別して観察することもできるが、同じような細胞でも区別して観察することができる。図3はめしべの中に花粉が侵入している様子を蛍光観察したものである。花粉は花粉管という管をめしべの中に伸ばして受精を行うが、めしべの中心を通っていくため、これまでその様子を観察することは容易ではなかった。また、花粉管を観察するためには、アニリンブルーという蛍光試薬で染色する

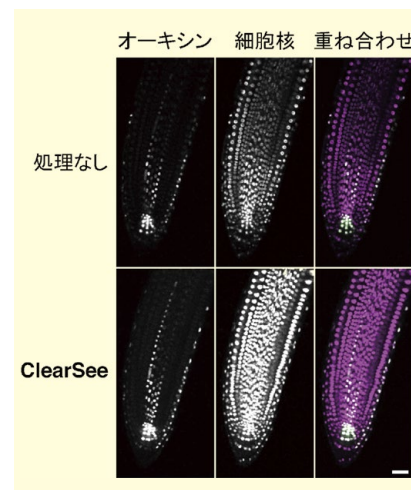


図2. ClearSee 処理後も遺伝子発現は保存されている
 ClearSee 溶液で4日間処理したシロイヌナズナの根。重ね合わせ像では、オーキシシン応答細胞の核を緑色、全身の細胞核を紫色で示す（スケールバーは30 μm）。文献5より改変。



図3. ClearSeeにより透明化しためしべを丸ごと蛍光観察
花粉管を4色の蛍光タンパク質（青色、緑色、黄色、赤色）
で目印をつけている（左：処理なし、右：ClearSeeによる
透明化処理）。

必要があったが、すべての花粉管を青く染色してしまうため、個々の花粉管を区別することはできなかった。しかし、蛍光タンパク質を利用すれば、青色蛍光タンパク質を発現する植物、緑色蛍光タンパク質を発現する植物のように、それぞれ違う色の蛍光タンパク質を花粉で発現する植物を作製することで、異なる個体由来の花粉を区別して観察することが可能である。これを利用して、遺伝子型や種が異なる花粉管の色を変えて区別することで、めしべの中で互いに競争を行っているのかなどを解析することがはじめて可能となった。

ClearSee の利用

ClearSeeによる透明化の特徴として、これまで述べてきたような、各種蛍光タンパク質の蛍光を保持しながら透明化できること、低侵襲な蛍光観察ができることに加えて、ClearSee処理したサンプルは長期間保存できるこ

とが挙げられる。図3のめしべは、半年間 ClearSee 溶液内で保存したサンプルであるが、蛍光タンパク質を損なうことなく、蛍光観察ができていることが分かる。長期間保存することができるため、一度観察したサンプルも、再び ClearSee 溶液内で保存しておけば、繰り返し蛍光観察することが可能である。

ClearSeeを用いた透明化の手順は非常に簡単であり、組織の固定化、洗浄、透明化の3つの工程だけである。まず、植物を4%パラホルムアルデヒド溶液に30～120分浸けて組織を固定する。植物組織の固定化にはパラホルムアルデヒド溶液の他に、酢酸・エタノール混合液といった有機溶媒を用いる方法もあるが、有機溶媒は蛍光タンパク質を消光してしまうため、用いることはできない。固定化の後、パラホルムアルデヒド溶液を除き、PBSで組織を洗浄した後、ClearSee溶液に室温で浸けておくだけで透明化が始

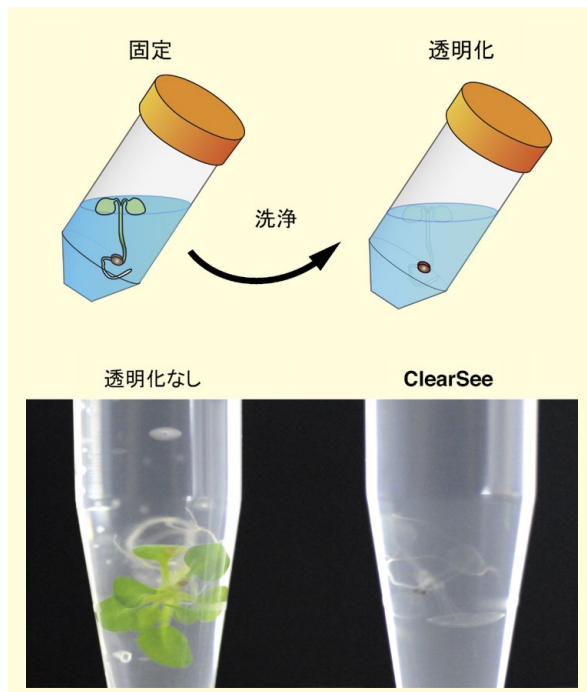


図4. ClearSeeによる植物透明化の手順
下段はシロイヌナズナの幼植物（左：処理なし、右：
ClearSeeによる透明化処理）。

まる（図4）。根だと1～2日間、若い葉だと3～4日間、成熟した茎やめしべなどは2週間～4週間、透明化処理に時間を要する。このように ClearSee を用いることで、植物全身を透明化することが可能である（図4）。またモデル植物であるシロイヌナズナだけではなく、作物であるタバコ、トマト、キュウリ、園芸植物であるトレニア、ペチュニアなど幅広い植物で利用することもできる（図5）。

ClearSeeを利用する際の注意点として、細胞構造やタンパク質局在を保ったまま透明化するためには、組織を固定するステップが重要である。パラホルムアルデヒド溶液による固定化の最適な条件は、植物種、また組織によっても異なってくる。まずは、固定化後のサンプルを観察して、細胞構造は保っているか、蛍光タンパク質は観察できているかを確認して、固定処理時間などを検討することが重要となる。

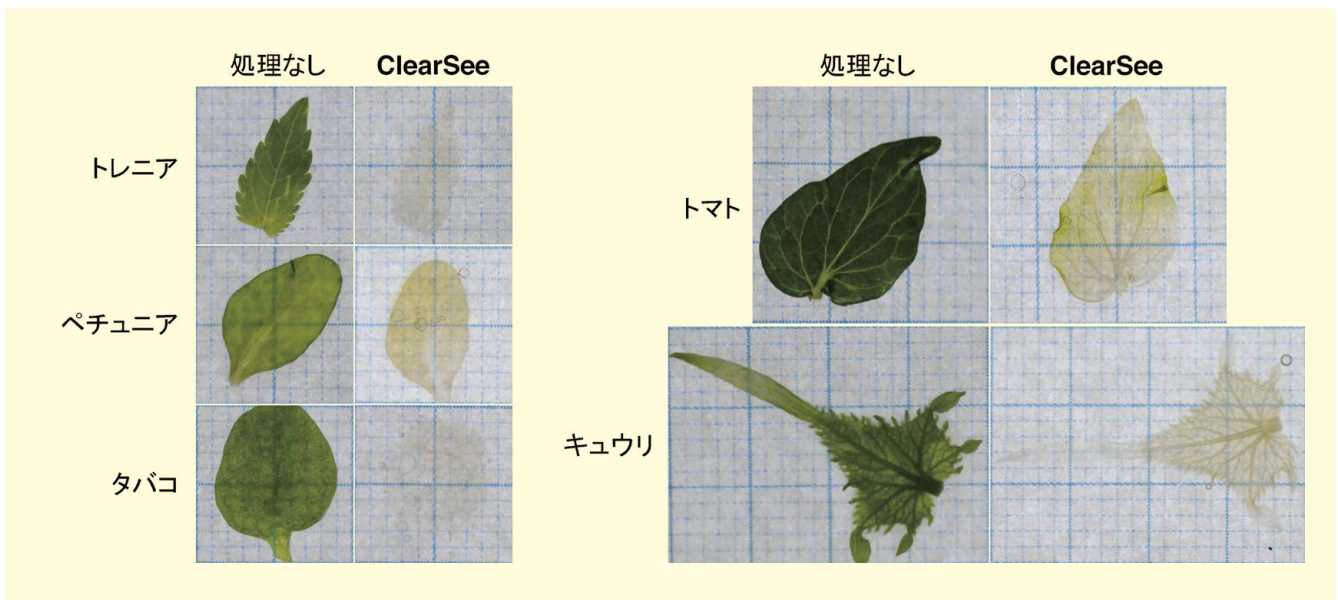


図5. ClearSee で6日間処理した各植物の葉

おわりに

これまで生体内部組織を直接蛍光観察するためには、深部観察に特徴を持つ二光子励起顕微鏡を利用しなければならなかった。しかし、二光子励起顕微鏡は非常に高価であり、全ての研究者が気軽に使用できるほどにはまだ普及しておらず、さらに植物においては、二光子励起顕微鏡を用いたとしても深部観察は困難であった。今回開発したClearSeeで透明化することで、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、二光

子励起顕微鏡と同等に内部まで蛍光観察し、また取得した画像を用いて、植物組織を立体再構築することも可能である。また、レーザーを光源としない一般的な蛍光顕微鏡であっても、ClearSee処理した植物組織は内部まで蛍光観察できるため、ClearSeeによる蛍光観察は多くの植物研究者が利用できる技術である。今後、ClearSeeが普及することで、植物科学研究が加速していくことを期待している。

【参考文献】

1) Hama, H. *et al.* : *Nat. Neurosci.*, **14**, 1481-1488

(2011).

2) Ke, M. T. *et al.* : *Nat. Neurosci.*, **16**, 1154-1161 (2013).

3) Susaki, E. A. *et al.* : *Cell*, **157**, 726-739 (2014).

4) Tainaka, K. *et al.* : *Cell*, **159**, 911-924 (2014).

5) Kurihara, D. *et al.* : *Development*, **142**, 4168-4179 (2015).

Products

Wako

植物科学研究ツールに !!

植物透明化試薬「ClearSee™」

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
031-25151	ClearSee™	植物透明化用	50ml	照 会

☑…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10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。

はじめに：Silica-SMAPとは

トリアルキルホスフィンには強いσ-供与効果から金属配位子として、有機合成化学や有機金属化学、錯体化学と広い分野で利用されている。一般に不安定であり、取り扱いに注意を要する(グローブボックスなど)。高活性なホスフィンというと不安定(=酸素に弱い)という認識があるため、本稿では『空气中で酸化されないトリアルキルホスフィン』であるSilica-SMAPを高性能ホスフィンと区別することにする。

Silica-SMAP (Silicon-constrained Monodentate Alkyl-Phosphine) は北海道大学大学院 理学研究院教授の澤村先生によって開発されたトリアルキルホスフィンであり、SMAPと呼ばれるかご型構造を持つホスフィンをシリカゲルに固定化している。立体的にも電子的にもPMe₃に似ており、電子供与性は高い。しかし、PMe₃とは対照的に、本品は『空气中で酸化されない』特長がある。これはかご型構造の剛直性のため、空気酸化の際に必要なとされるP原子を中心とする結合角の変化が起こりにくいことが原因と考えられている。(空気に対する安定性に関しては約2年経過しても性能に問題ないことを当社にて確認している。) また、シリカゲル上のホスフィンが離れた位置で金属と1:1の錯体を形成し、金属のまわりに広い触媒空間を作り出すことが可能なため、高い性能を有している。さらに、反応後の処理では固定化触媒と同様、濾過するだけで金属触媒及びSilica-SMAP共に除去することができる。

上述した特長を有するSilica-SMAP (P: 約0.07 mmol/g) はさまざまな金属触媒と錯体を形成し、(1) C-H ほう素化反応、(2) 塩化アリールのほう素化カップリング反応、(3) 鈴木-宮浦クロスカップリング反応、(4) ケトン

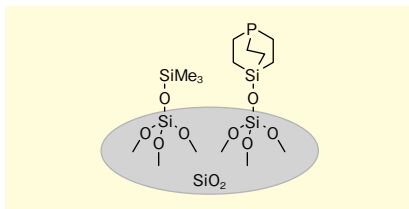


図1. Silica-SMAPの概略図

のヒドロシリル化反応に使用できる。お客様の反響が大きく、当社としてもバルク供給を目指して合成検討し、現在では1kg合成できる製法を確立している。以前に(1) C-H ほう素化をメインとした原稿を澤村先生に執筆いただいているため(和光純薬時報Vo.82, No.1 (2014))、今回は(2) 塩化アリールのほう素化カップリング反応を中心に反応例を紹介する。

Silica-SMAP – Pd系による塩化アリールのほう素化カップリング

一般にクロスカップリング反応において、使用するハロゲン化アリールの反応性はI > Br > Clとなることから、よう化アリールまたは臭化アリールが多く使用されている。一方、価格面で観るとCl > Br > Iであり、さらに市販されている化合物数でも同様に

Cl > Br > Iとなる。即ち、塩化アリールで効率的にクロスカップリング反応が進行すれば、コストが低く基質選択性の幅も広がるメリットがある。従来、反応性の低い塩化アリールをクロスカップリングに用いる場合、SPhosやXPhosのような電子リッチで嵩高いホスフィン(図2)が必要であった¹⁾。しかし、Silica-SMAPはコンパクトなホスフィンでありながら効率的に反応が進行する²⁾。尚、反応液を濾過した後の濾液に含まれるPdはICPにて検出限界以下である。

Silica-SMAP – Pdを用いる塩化アリールのほう素化カップリング反応では、電子供与性置換基または電子吸引力置換基のいずれも高い収率で目的物が得られる(図3)。

4クロロトルエンとpinB-Bpinのカップリング反応では、さまざまなホスフィンは不活性であるのに対し、Silica-SMAP及びXPhosは有効であることがわかる(図4)。

基質に2,6-ジメチルクロロベンゼンを用いた場合、本品がSPhos及びXPhosを上回る触媒性能が示された(図5)。

特筆すべきは、2,6-ジフェニルクロロベンゼンや2,4,6-トリイソプロピルクロロベンゼンのような嵩高い塩

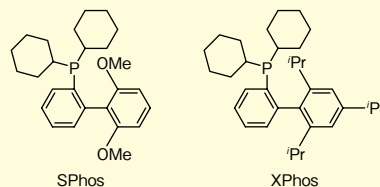


図2. SPhosとXPhosの構造式

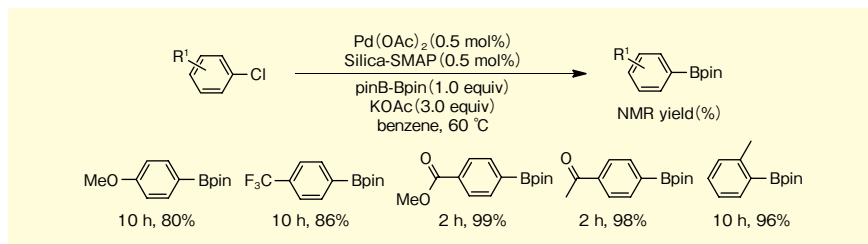


図3. さまざまな置換基を有する塩化アリールのほう素化カップリング

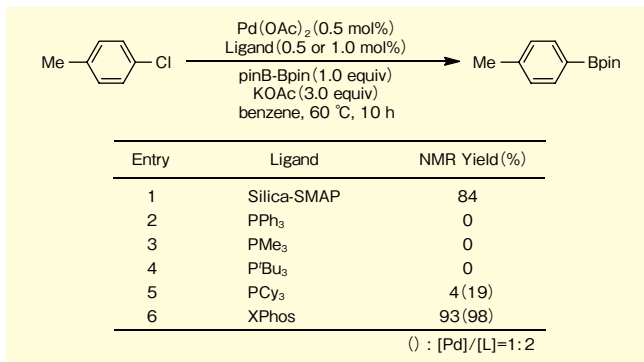


図4. 4-クロトルエンのほう素化カップリングでの配位子効果

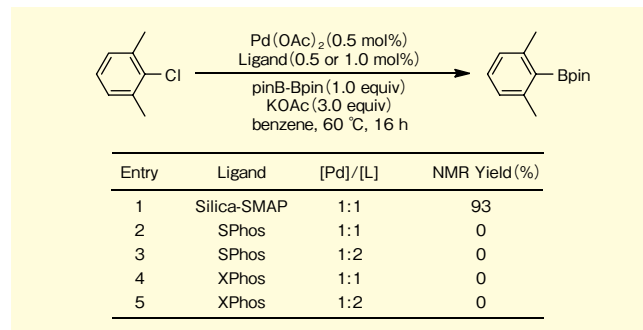


図5. 2,6-ジメチルクロロベンゼンのほう素化カップリングでの配位子効果

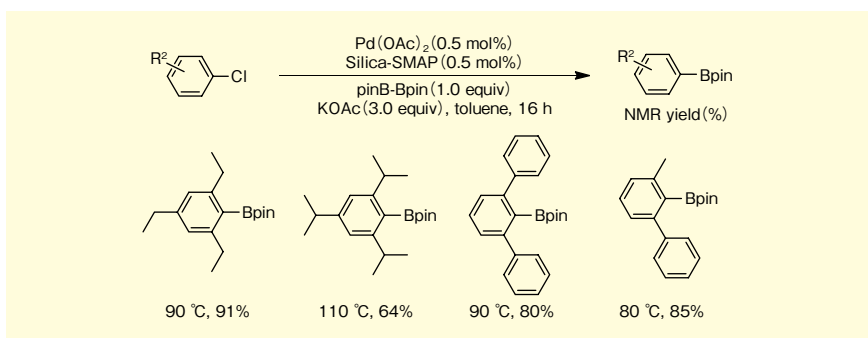


図6. 2,6-二置換塩化アリのほう素化カップリング

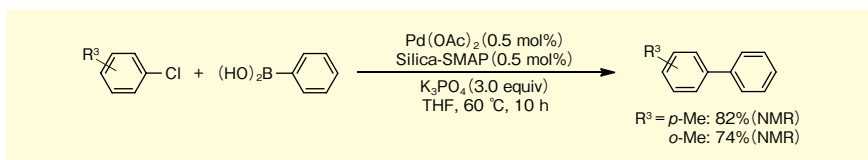


図7. 活性化されていない塩化アリールを用いた鈴木-宮浦クロスカップリング

化アリールでも良好な収率で対応するほう素体を与える (図6)。

本品はパラジウム触媒を用いた塩化アリールとアリールボロン酸の鈴木-宮浦クロスカップリング反応にも優れた反応性を示す (図7)。

では、立体障害を避けて進行する点で異なる⁴⁾。エステル、アミド、カルバマート、スルホン酸エステルなどの官能基またはエーテル系官能基、塩素原子でオルト位のC-Hほう素化が起こる (図8)。安息香酸メチルのほう素

化反応では、室温にて89%でほう素体を与えるが、PPh₃、P^tBu₃、PCy₃、PMe₃では全く反応しない。特に、無溶媒100℃の条件で触媒回転数20,000回を記録している。また、この触媒系はヘテロ芳香族化合物のオルト位C-Hほう素化反応⁵⁾、2-アルキルピリジンのピリジンN原子のγ位に位置するsp³-C-Hほう素化反応⁶⁾に適用できる。

Silica-SMAP - Rh系によるN官能性芳香族化合物のオルト位C-Hほう素化

Silica-SMAPと[Rh(OH)(cod)]₂の触媒系はN官能基を持つ芳香族化合物のオルト位C-Hほう素化に効果的である⁷⁾。2-フェニルピリジンのほう素化では98%で目的物を与えるが、他のホスフィンであるPMe₃、PCy₃、XPhosでは低収率となり、PPh₃、PBu₃、P^tBu₃、dtbpyでは全く反応が

Silica-SMAP - Ir系によるオルト位選択的芳香族C-Hほう素化

Silica-SMAPと[Ir(OMe)(cod)]₂(Silica-SMAP-Ir)を用いるとジボロン化合物による芳香族C-Hほう素化が官能基オルト位で進行する³⁾。従来報告されていたピリジン系配位子と[Ir(OMe)(cod)]₂から調製される触媒

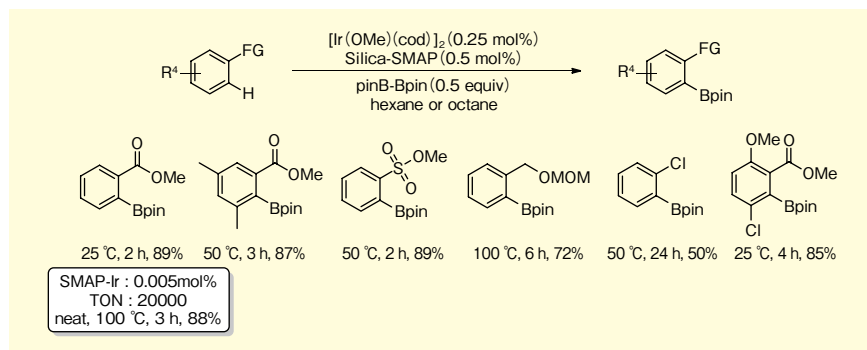


図8. オルト位選択的芳香族C-Hほう素化

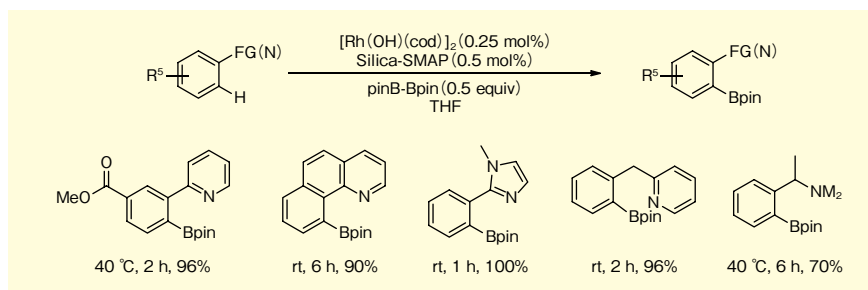


図9. N官能性芳香族化合物のオルト位 C-H ほう素化

進行しない。他の基質の例を図9に示す。また、イミン系官能基を有する基質の場合、類似ホスフィンである Silica-TRIP が適している。

紹介した。当研究所でもスケールアップ合成に関して特に力を注いだ商品であり、これを用いた製造または研究が色々な分野で展開されることを期待する。

終わりに

さまざまな特長ある反応に適応できる高性能な Silica-SMAP の反応例を

【参考文献】

- 1) Martin, R. and Buchwald, S. L. : *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1461 (2008).
- 2) Kawamorita, S., Ohmiya, H., Iwai, T. and Sawamura, M. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**,

8363 (2011).

- 3) (a) Kawamorita, S., Ohmiya, H., Hara, K., Fukuoka, A. and Sawamura, M. : *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 5058 (2009). ; (b) Yamazaki, K., Kawamorita, S., Ohmiya, H. and Sawamura, M. : *Org. Lett.*, **12**, 3978 (2010).
- 4) (a) Mkhali, I. A. I., Barnard, J. H., Marder, T. B., Murphy, J. M. and Hartwig, J. F. : *Chem. Rev.*, **110**, 890 (2010). ; (b) Boller, T. M., Murphy, J. M., Hapke, M., Ishiyama, T., Miyaura, N. and Hartwig, J. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 14263 (2005).
- 5) Yamazaki, K., Kawamorita, S., Ohmiya, H. and Sawamura, M. : *Org. Lett.*, **12**, 3978 (2010).
- 6) Kawamorita, S., Murakami, R., Iwai, T. and Sawamura, M. : *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 2947 (2013).
- 7) Kawamorita, S., Miyazaki, T., Ohmiya, H., Iwai, T. and Sawamura, M. : *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 19310 (2011).

Products



コード No.	品名	規格 / メーカー	容量	希望納入価格 (円)
197-17451	Silica-SMAP	有機合成用	1g	18,000
193-17453			5g	70,000
194-17461	Silica-TRIP	有機合成用	1g	15,000
190-17463			5g	60,000
323-56973	Bis(pinacolato)diboron [pinB-Bpin]	(株)ワコーケミカル	5g	6,500
325-56972			25g	27,000
321-56974			100g	65,000
329-56975			500g	照会
048-31831	Di- μ -methoxobis(1,5-cyclooctadiene)diiridium (I) [[Ir(OMe)(cod)] ₂]	有機合成用	250mg	8,500
044-31833			1g	23,000
042-31834			5g	照会
163-07141	Palladium (II) Acetate	和光特級	1g	6,200
169-07143			5g	22,000
161-07142			25g	95,000
043-34061	2-(Dicyclohexylphosphino)-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl [XPhos]	有機合成用	1g	9,500
049-34063			5g	34,000
049-32601	2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl [SPhos]	有機合成用	1g	12,000
045-32603			5g	40,000
047-32602			25g	95,000

Ref¹…2~10℃保存 Ref²…-20℃保存 Ref³…-80℃保存 Ref⁴…-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10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。

シリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレート-ワコーの開発と分離精製システムへの応用

和光純薬工業株式会社 試薬化成品研究所 柴田 剛志

現在、分離精製分野で使用されているシリカゲル製品は、一般的に比表面積 400 ~ 500m²/g、細孔径 6 ~ 7nm のシリカゲルで構成されています。当社ではより有用な分離材料として、比表面積 700 ~ 800m²/g、細孔径 3 ~ 4nm の高比表面積シリカゲルに着目し、本シリカゲルが一般シリカゲルと比べて以下の2点において有用であることを見出しました。

- ・約2倍の分離能を有する（負荷量を2倍に上げることができる）
- ・難溶性化合物の分離に有効である

上記の結果に基づき、2010年に高比表面積シリカゲルを担体とした中圧分取用カラム「プレセップ®（ルアー

ロック）シリカゲル（HC-N）シリーズ」及びバルクシリカゲル「ワコーシル® HC-N」を発売しました。この度、これらと分離相のある TLC プレート「シリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレート-ワコー」として商品化しました。本品と先行品を併用することにより目的成分の溶出時間を予測することが可能となります。また、近年の自動分取精製装置に備わっている TLC の結果から最適な分取精製条件を出力するシステムへも適用することが可能です。

以下に高比表面積シリカゲルを塗布した本品とその特長についてご紹介します。

1. 高比表面積シリカゲルの特長

(図1、図2)

本シリカゲルの特長を示すデータとしてプレセップ®（ルアーロック）シリカゲル（HC-N）Mタイプの実例を図1、図2に示しました。本シリカゲルでは一般シリカゲル品と比べて分離能が約2倍向上し（図1）、保持能同一の条件下では酢酸エチルの組成を上げることができるため難溶性化合物の分離に有効であることが示唆されました（図2）。

2. シリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレート-ワコーの特長 (図3)

次にシリカゲル 40F₂₅₄ TLC プレート-ワコーと一般シリカゲル TLC（細

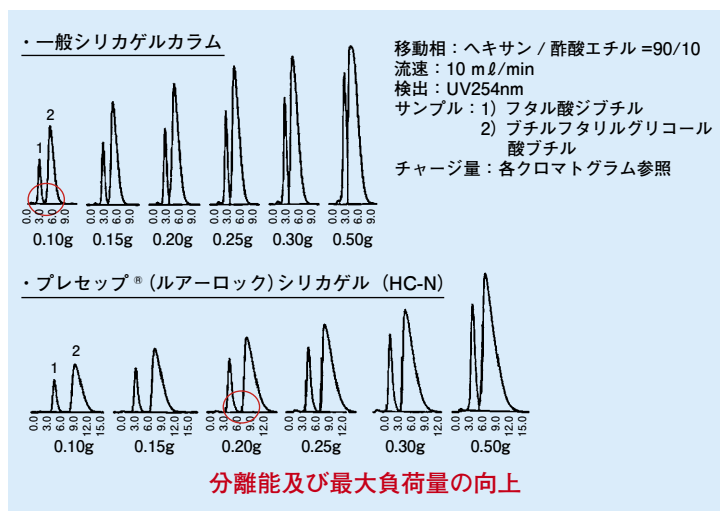


図1. 一般シリカゲルカラムとの分離比較①

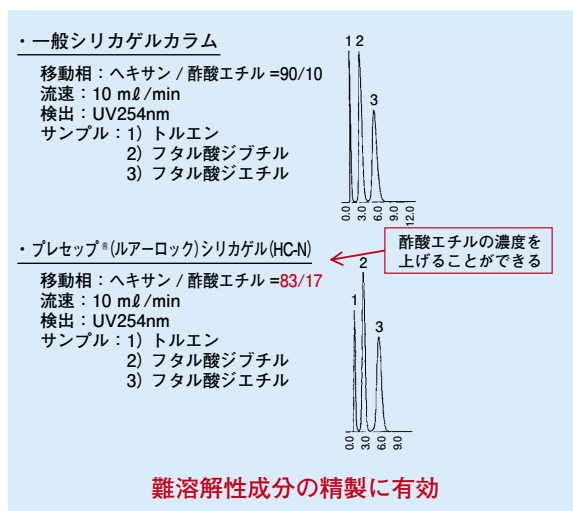


図2. 一般シリカゲルカラムとの分離比較②

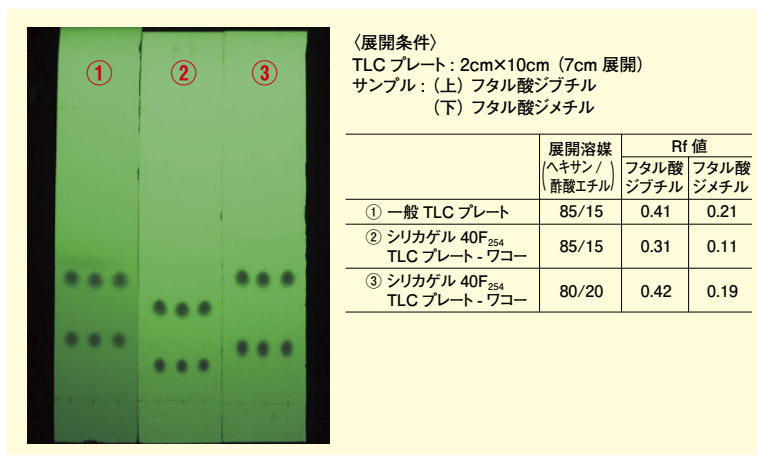


図3. 一般シリカゲル TLC プレートとの分離比較

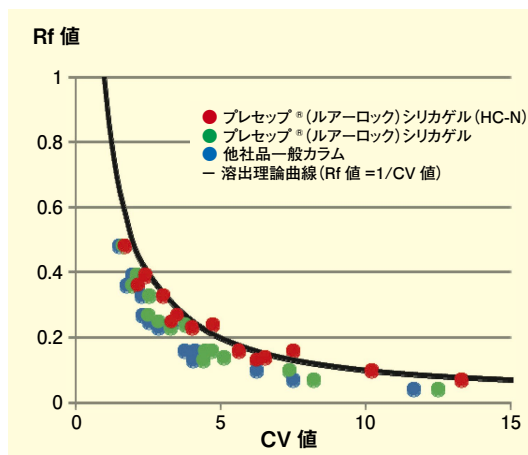


図4. 本品と各分取用カラムとの相関グラフ

孔径6~7nmのシリカゲルを塗布したTLCプレート)との分離比較を図3に示しました。本品は一般品と比べてRf値が低く、1.と同様に難溶性化合物の分離に有効であることが示唆されました。

3. TLCプレートと分取カラムの相関について (図4)

続いてシリカゲル40F₂₅₄TLCプレート-ワコーとプレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)の分離相関について検討しました。TLCのRf値とカラムでの溶出時間(CV)は一般

式Rf値=1/CVの関係にあり、溶出理論曲線は図4の実線グラフで表されます。プレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)の溶出時間を示すプロットは、溶出理論曲線付近に分布しており、これらの分離相関が高いことが示唆されました。

*一般式の補足としてRf値と溶出時間(CV)は図5で図示した関係にあります。例えばRf値=1.0の時は1CVで溶出し、Rf値=0.5の時は2CVで溶出します。この時の1CVはカラム1本の内部を溶離液で満たした時に

必要とする液量(ml)を示します。

4. 分取精製システムへの応用

最後にTLCのRf値から分取カラムの溶出条件を予測する機能が搭載された最新の分取精製装置への適用性について検討しました。一般TLCプレートと一般分取カラム、シリカゲル40F₂₅₄TLCプレート-ワコーとプレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)カラムの組合せで、溶出条件を4CV(Rf値=0.25)に設定したときのクロマトグラムを図6に示しました。いずれも設定通りの4CVで目的成分が溶出されており、装置への適用性について確認しました。

以上、この度開発したシリカゲル40F₂₅₄TLCプレート-ワコーは高比表面積シリカゲルを充てんしたプレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)カラム及びバルクゲルワコーシル®HC-N(35~63μm)と分離相関があり、TLCの結果から分取精製への移行がスムーズにできるようになりました。ご研究のスピードアップの一助としましてぜひともご活用下さい。

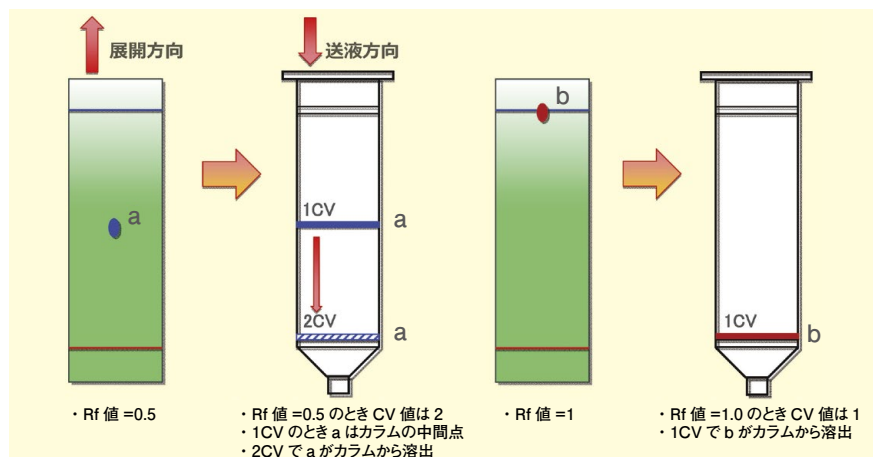


図5. TLC から分取カラムへ移行したときの溶出パターン

	一般 TLC プレート(細孔径 6nm シリカゲル塗布品) →プレセップ®(ルアーロック)シリカゲル	シリカゲル 40F ₂₅₄ TLC プレート-ワコー →プレセップ®(ルアーロック)シリカゲル(HC-N)
フタル酸ジエチル <chem>CCOC(=O)c1ccc(cc1)C(=O)OCC</chem>	ヘキサン / 酢酸エチル = 88/12 	ヘキサン / 酢酸エチル = 82/18
フタル酸ジメチル <chem>COC(=O)c1ccc(cc1)C(=O)OC</chem>	ヘキサン / 酢酸エチル = 82/18 	ヘキサン / 酢酸エチル = 76/24
p-アミノアゾベンゼン <chem>Nc1ccc(cc1)/N=N/c2ccccc2</chem>	ヘキサン / 酢酸エチル = 73/27 	ヘキサン / 酢酸エチル = 67/33

図6. 溶出条件=4CV (Rf=0.25)、ヘキサン / 酢酸エチル系での分離比較

高比表面積シリカゲル TLCプレート



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
194-18201	Silicagel 40 F ₂₅₄ TLC Plate-Wako	薄層クロマトグラフ用	5枚 (20×20cm)	9,500

シリカゲル40F₂₅₄TLCプレート-ワコー対応 分取カラム

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) Type M (13g/25mℓ)	分取クロマトグラフ用	20本	35,000
297-34043			100本	照 会
295-34061	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) Type L (35g/70mℓ)	分取クロマトグラフ用	20本	45,000
291-34063			100本	照 会
292-34071	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) Type 2L (50g/100mℓ)	分取クロマトグラフ用	20本	60,000
298-34073			100本	照 会
294-34031	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) Type 3L (115g/200mℓ)	分取クロマトグラフ用	5本	28,000
290-34033			30本	照 会
299-34081	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) Type 4L (230g/400mℓ)	分取クロマトグラフ用	5本	38,000
295-34083			30本	照 会

シリカゲル40F₂₅₄TLCプレート-ワコー対応 カラムクロマト用担体

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

関連商品

シリカゲル 40F₂₅₄ プレート - ワコーの他にも、細孔径7nm (70Å) のシリカゲルを使用した TLC、PLC プレートの取扱いがございます。併せてお試しください。

分取・精製用

PLCプレート-ワコー

シリカゲル 70PF₂₅₄ PLC プレート - ワコーは、分取用の PLC プレートです。分取したい試料の量によって使い分けができる層厚 1mm と 0.75mm の 2 種類のラインアップです。

分析・分取用

TLCプレート-ワコー

シリカゲル TLC プレート - ワコーは、細孔径7nm (70 Å) の多孔質シリカゲルをガラス板上に均一に塗布した TLC プレートです。蛍光物質を添加している 70F₂₅₄ タイプ、70FM タイプ、蛍光物質不含のシリカゲル 70 タイプを取扱っています。

コード No.	品 名	層 厚	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
195-12871	Silicagel 70 PF ₂₅₄ Plate-Wako	0.75mm	薄層クロマトグラフ用	10枚 (20cm×20cm)	15,000
197-18193	Silicagel 70 F ₂₅₄ PLC Plate-Wako	1mm	薄層クロマトグラフ用	10枚 (20cm×20cm)	22,000
199-17813	Silicagel 70 F ₂₅₄ TLC Plate-Wako	0.25mm	薄層クロマトグラフ用	10枚 (5cm×10cm)	2,900
193-17816				200枚 (5cm×10cm)	25,500
197-17814				100枚 (5cm×20cm)	22,500
193-17811				25枚 (20cm×20cm)	16,800
196-17884	Silicagel 70 FM TLC Plate-Wako (広領域紫外線250-400nm対応)	0.25mm	薄層クロマトグラフ用	10枚 (5cm×10cm)	3,000
198-17883				100枚 (5cm×20cm)	24,500
192-17881				25枚 (20cm×20cm)	19,500
199-17874	Silicagel 70 TLC Plate-Wako	0.25mm	薄層クロマトグラフ用	10枚 (5cm×10cm)	2,700
191-17873				100枚 (5cm×20cm)	22,500
195-17871				25枚 (20cm×20cm)	16,000

☐…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10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。

高性能 Bisulfite 法の開発

和光純薬工業株式会社 ライフサイエンス研究所 林田 幸信

生体内におけるゲノム DNA のメチル化は遺伝子発現の制御に関わり、メチル化のパターンの差異が、発生、分化、がん等の疾患に関係することが報告されています。ゲノム DNA のメチル化解析は病気の原因解明や予防、医薬品の開発、再生医療の研究等において重要な役割を持っています。

現在、DNA 塩基配列中のメチル化シトシンを測定する方法としては Bisulfite 法が一般的な方法として普及しています。

従来一般的な Bisulfite 法は DNA の分解が激しいため、PCR 増幅鎖長の設定を短くする必要があります。また PCR 増幅する遺伝子領域によっては非メチル化シトシンからウラシルへの変換率が高くないため、メチル化シトシンの検出精度が低い等の問題を有していました。そのため、遺伝子配列の影響を低減した非メチル化シトシンのウラシルへの変換効率が高い Bisulfite 法の開発が望まれていました。

図1は Lambda DNA を鋳型として EpiSight™ Bisulfite Conversion Kit Ver.2 により Bisulfite 反応後、910bp という Bisulfite PCR では長い鎖長を増幅し、塩基配列を解読した結果です。Lambda DNA はすべてのシトシンは非メチル化であり、Bisulfite 反応後はすべてウラシルに変換され、PCR 増幅産物はシトシンが存在しないと予想されます。図1の波形チャートにはシトシンは存在せず、150箇所あるシトシンはすべてチミンに変換されています。EpiSight™ Bisulfite Conversion Kit Ver.2 は Enhancer を Bisulfite 反応時に添加することにより一般的な Bisulfite 法では DNA の分解が激しくて条件設定できなかった 900bp 以上の PCR 産物の増幅に成功しており、また非メチル化シトシンのウラシルへの変換率もほぼ100%に近いデータが得られています。

今回、マウス ES 細胞 (胚性幹細胞) 及び M1 細胞 (白血病由来細胞) ゲノム

Lambda DNA
PCR 増幅鎖長 : 910bp
PCR 増幅領域 GenBank Accession No. NC_001416 : 26062 - 26971



図1. Lambda DNA PCR 増幅産物塩基配列解読結果

mES : マウスES細胞 (胚性幹細胞)
M1 : マウス白血病由来細胞 (分化した体細胞)

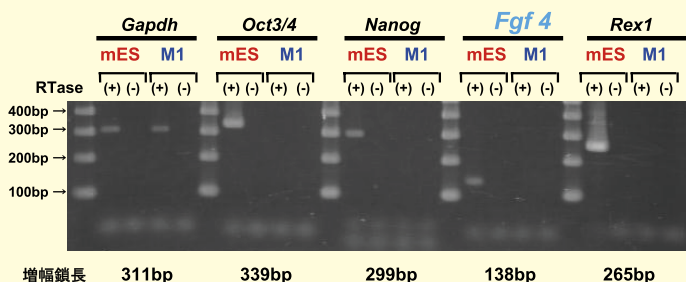


図2. 幹細胞未分化マーカー発現量解析

DNA を鋳型として *EpiSight*TM Bisulfite Conversion Kit Ver.2 により Bisulfite 反応後、幹細胞未分化マーカーである *Fgf4* プロモーター領域の PCR 増幅を試みました。PCR 増幅鎖長は 521bp、CpG ジヌクレオチド数は 61 箇所という Bisulfite PCR としては長い増幅鎖長であり、GC 含量も高いことから立体構造の影響も大きいと予想される領域を選択しました。

ES 細胞及び M1 細胞の幹細胞未分化マーカーの発現解析を図 2 に示しています。ES 細胞は幹細胞ですので幹細胞未分化マーカーである *Fgf4* の mRNA は発現しており、プロモーター領域は非メチル化状態、一方 M1 細胞は分化した体細胞ですので *Fgf4* の mRNA は発現しておらず、プロモーター領域はメチル化されていると予想されます。ES 細胞及び M1 細胞の増幅産物の塩基配列を解読した結果、ES 細胞では CpG ジヌクレオチドも含めてほぼすべてのシトシンはウラシル (チミン) に変換されていました (図 3-1)。一方、M1 細胞では CpG ジヌクレオチド以外のシトシンはウラシル (チミン) に変換されており、CpG ジヌクレオチドのシトシンはシトシンでした (図 3-2)。図 4 は ES 細胞及び M1 細胞の PCR 増幅産物をクローニング後、各 11 サンプル塩基配列を解読した結果です。今回の結果は *Fgf4* mRNA の発現量を反映しています。

*EpiSight*TM Bisulfite Conversion Kit Ver.2 はスピнкаラムの使用により精製過程の簡便化及び短時間化を実現しておりさらに使いやすくなっています。

ぜひとも検討していただければと思います。

マウス *Fgf4* プロモーター領域
 PCR 増幅鎖長 : 521bp
 CpG : 61 箇所
 PCR 増幅領域 GenBank Accession No. AC_149593 : 230224 - 230744

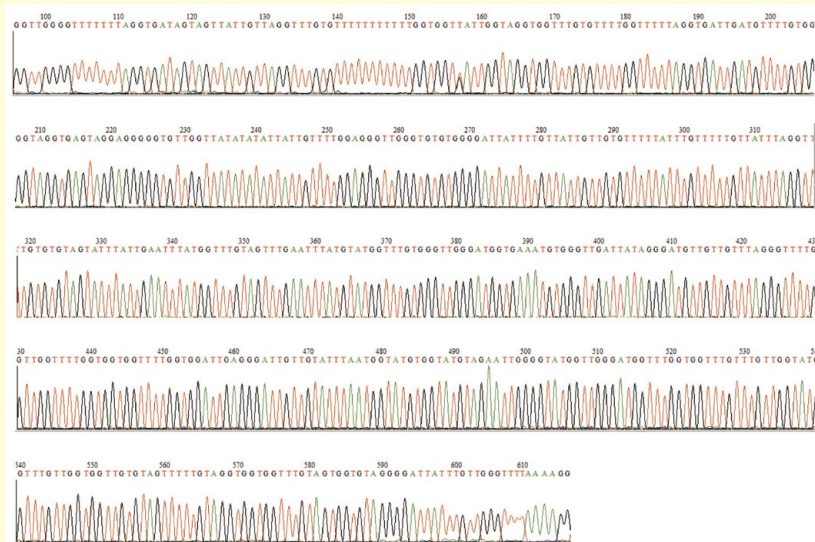


図 3-1. マウス ES 細胞 PCR 増幅産物塩基配列解読結果

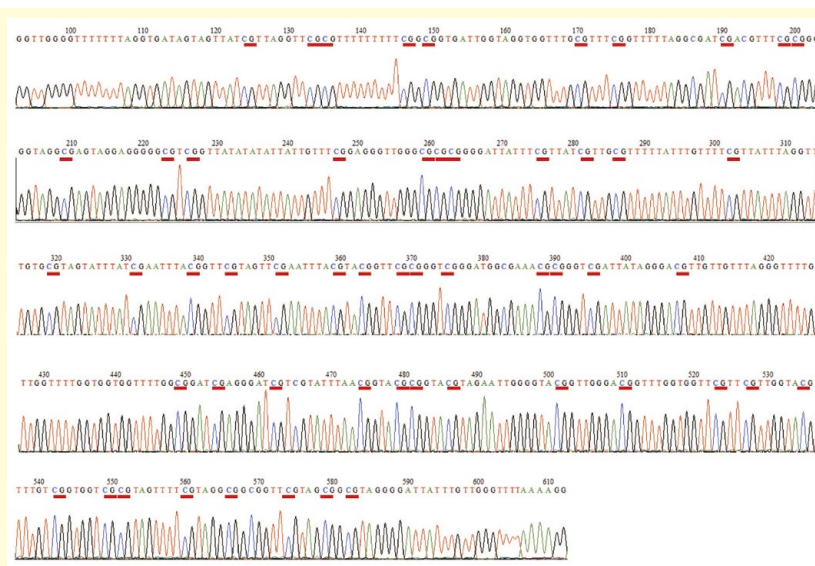


図 3-2. マウス M1 細胞 PCR 増幅産物塩基配列解読結果

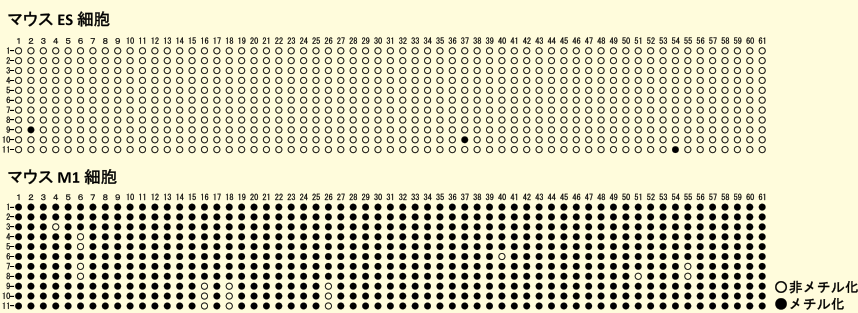


図 4. マウス ES 及び M1 細胞 *Fgf4* プロモーター領域メチル化解析結果

☐...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10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。

Enhanced Bisulfite Reaction



バイサルファイト反応によるDNA分解を抑制し、長い鎖長を一度に増幅！

エピサイト™ バィサルファイトコンバージョンキット Ver.2 エピサイト™ BisulTaq™ DNA ポリメラーゼ, 組換え体, 溶液 Ver.2

本品は、独自開発したバイサルファイト溶液及び反応エンハンサーの添加により鋳型ゲノム DNA の分解を抑制し、かつシトシンのウラシルへの変換効率を大幅に向上させた商品です。当社従来品は、エタノール沈殿法による精製を採用していましたが、Ver.2はスピンカラム法による精製を採用しています。スピンカラム法の採用により DNA 精製を簡便な操作で再現性良く行うことができます。

また、専用の Taq DNA Polymerase との併用により、バイサルファイト反応後の PCR 増幅が困難な塩基配列においても、安定的かつ高効率に増幅可能です。

特長

- 独自開発のエンハンサーにより DNA の分解を抑制
- スピンカラムによる簡便な操作
- CpG リッチな配列を効率よく増幅
- 非特異増幅を防ぐホットスタート DNA ポリメラーゼ

下記でお悩みの方は是非一度お試しください。

- 長い鎖長を一度に増幅して効率的に解析したい
- 非メチル化シトシンがウラシルへ変換されないことがある
- メチル化シトシンがウラシルへ変換されることがある
- PCR の増幅効率を上げたい

キット構成

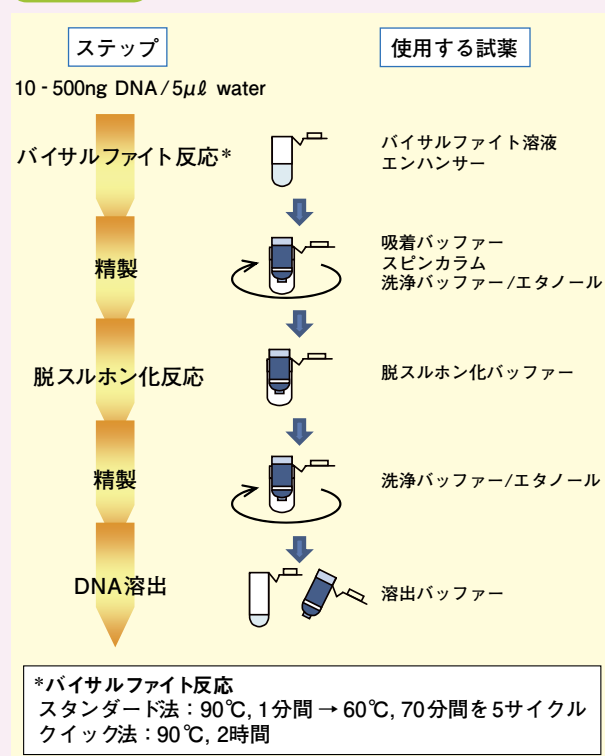
■ エピサイト™ バィサルファイトコンバージョンキット Ver. 2

- バィサルファイト溶液 1.8ml × 1本
- エンハンサー 100μl × 1本
- 吸着バッファー 10ml × 1本
- 洗浄バッファー 4.8ml × 1本
- 脱スルホン化バッファー 1ml × 1本
- 溶出バッファー 500μl × 1本
- スピンカラム 20本

■ エピサイト™ BisulTaq™ DNA ポリメラーゼ, 組換え体, 溶液 Ver. 2

- BisulTaq™ DNA ポリメラーゼ, 組換え体, 溶液 Ver. 2 10μl × 1本
- 10 × 反応バッファー 100μl × 1本
- dNTPs 溶液 (各2mmol/l) 100μl × 1本

使用方法



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 291-78501	EpiSight™ Bisulfite Conversion Kit Ver.2	☐ ¹ ☐ ² ☐ ³ ☐ ⁴	遺伝子研究用 20回用	26,000
NEW 293-78701	EpiSight™ BisulTaq™ DNA Polymerase, recombinant, Solution Ver.2	☐ ⁵	遺伝子研究用 20回用	7,000

☐¹…2～10°C保存 ☐²…-20°C保存 ☐³…-80°C保存 ☐⁴…-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10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。

安価で高性能な遺伝子導入試薬 ScreenFect™ シリーズ 遺伝子導入促進剤 SFA P-reagent **新発売**

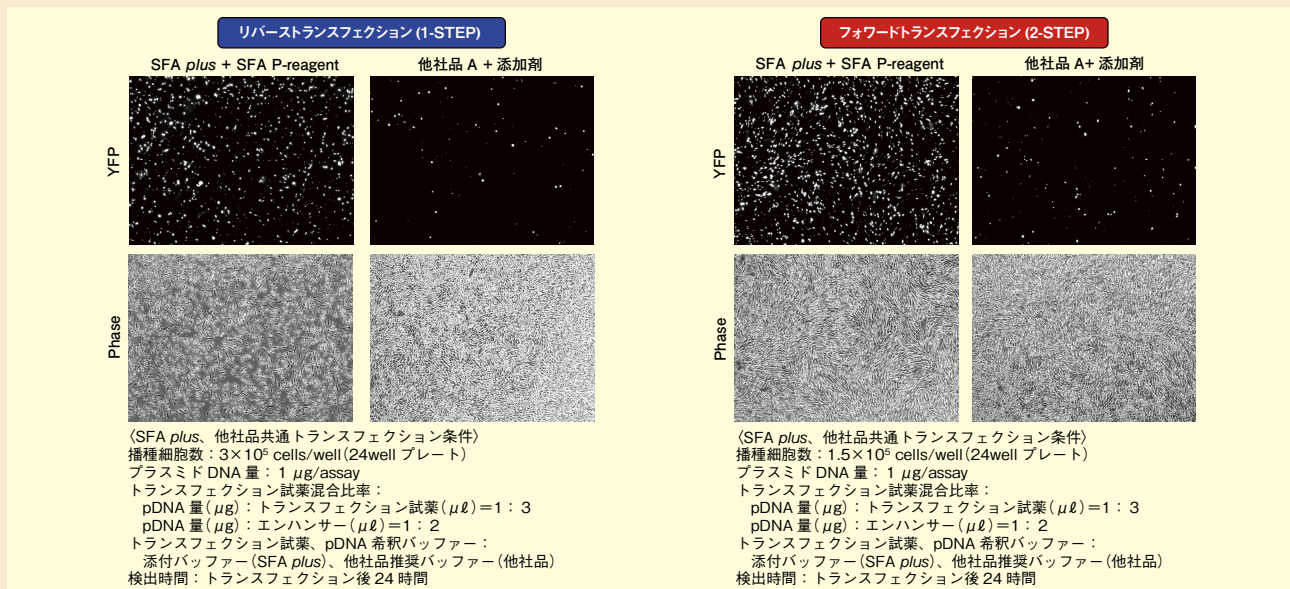


ScreenFect™ は、新規カチオン性リポソームから構成されるトランスフェクション試薬です。DNA、siRNA、mRNA を導入できる ScreenFect™ A 及び ScreenFect™ A plus、siRNA 特化型の ScreenFect™ siRNA、mRNA 特化型の ScreenFect™ mRNA をご用意しています。また、新製品の遺伝子導入促進剤 SFA P-reagent を ScreenFect™ と合せてご使用いただくことで、遺伝子導入効率の促進、導入遺伝子の発現率の向上、細胞毒性の低減が期待できます。

今回は、ScreenFect™ シリーズの各種実験データをご紹介します。

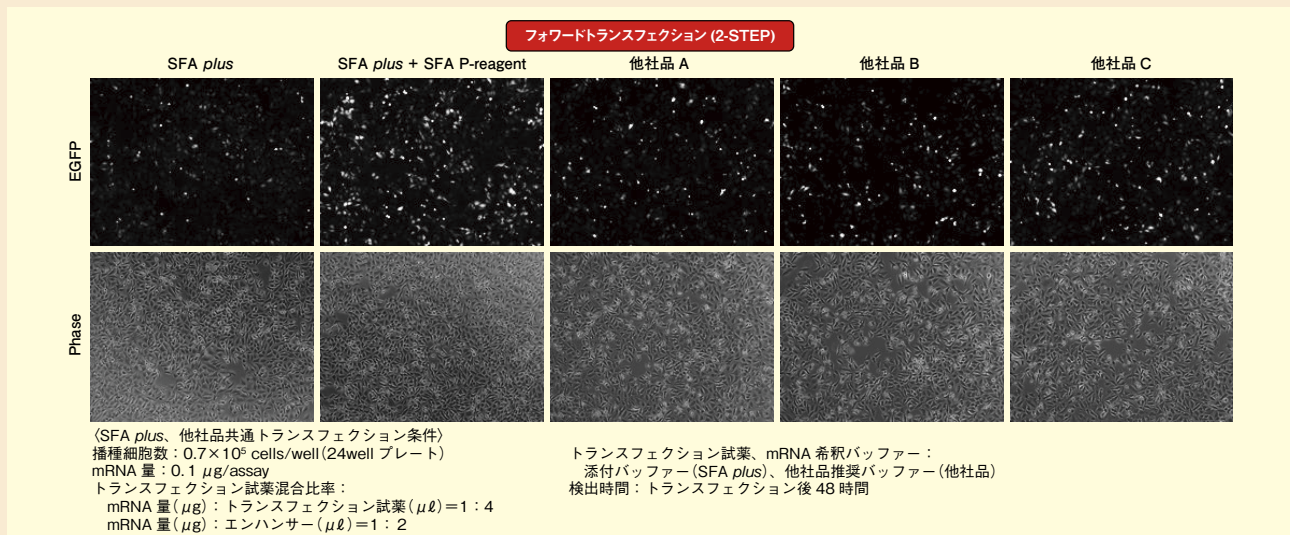
■ LNCaP 細胞 (ヒト前立腺がん) における性能比較 [ScreenFect™ A plus (SFA plus), SFA P-reagent]

LNCaP 細胞 (接着系) へ YFP 融合遺伝子の導入実験を行い、蛍光顕微鏡にて導入効率を比較しました。ScreenFect™ A plus とエンハンサー試薬である SFA P-reagent を用いることで、他社製品と同等以上の導入効率を示しました。



■ HeLa 細胞における mRNA トランスフェクションの性能比較 [ScreenFect™ A plus (SFA plus), SFA P-reagent]

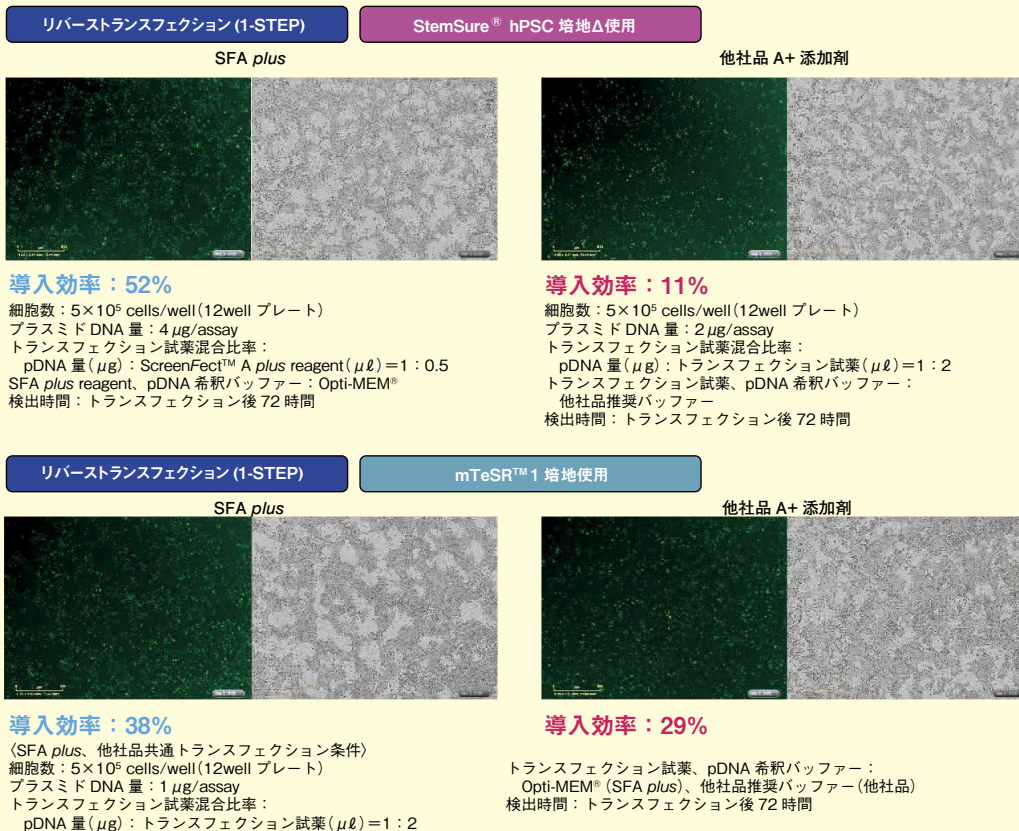
HeLa 細胞 (接着系) へ EGFP_mRNA の導入実験を行い、蛍光顕微鏡にて導入効率の比較を行いました。ScreenFect™ A plus とエンハンサー試薬である SFA P-reagent を用いることで、他社製品と同等以上の導入効率を示しました。



[次頁に続く]

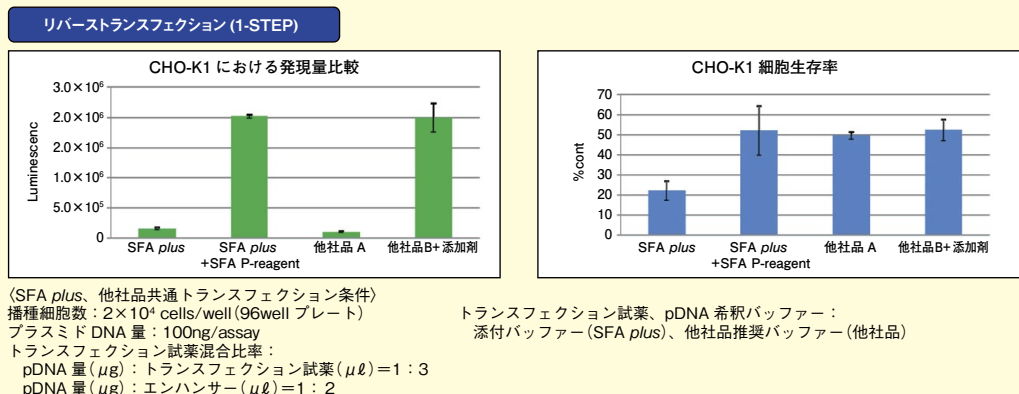
■ hiPSC (201B7 株) における性能比較【ScreenFect™ A plus (SFA plus)】

hiPSC (201B7 株) ヘリバーストランスフェクション (1-STEP) で GFP 融合遺伝子の導入実験を行い、蛍光顕微鏡及びフローサイトメーターにて導入効率を比較しました。hiPSC はリバーストランスフェクション法によるトランスフェクションが最も効果的であり、StemSure® hPSC 培地 Δ (コード No. 197-17571) と mTeSR™1 の両培地において、ScreenFect™ A plus は他社製品と同等以上の導入効率を示しました。



■ CHO-K1 細胞における性能比較【ScreenFect™ A plus (SFA plus), SFA P-reagent】

CHO-K1 細胞ヘリバーストランスフェクション (1-STEP) でルシフェラーゼレポーターベクターの導入実験を行い、発現量及び細胞生存率を比較しました。エンハンサー試薬である SFA P-reagent を添加することで細胞生存率が大きく向上し、ルシフェラーゼの発現量も他社製品とほぼ同等の性能を示しました。



[次頁に続く]

☐₂…2~10℃保存 ☐₂₀…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10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。

■ Sf9 細胞 (ヨトウガ) における性能比較【ScreenFect™ A (SFA)】

Sf9 細胞へリバーストランスフェクション法で GFP 融合遺伝子の導入実験を行い、蛍光顕微鏡にて導入効率を比較しました。結果、ScreenFect™ A は他社製品と同等以上の導入効率を示しました。

リバーストランスフェクション (1-STEP)

	SFA	他社品 A	他社品 B	他社品 C
GFP				
DIC				

(SFA、他社品共通トランスフェクション条件)
 播種細胞数：2×10⁵ cells/well (24well プレート)
 プラスミド DNA 量：1 μg/assay
 トランスフェクション試薬混合比率：
 pDNA 量 (μg)：トランスフェクション試薬 (μl)=1：1

トランスフェクション試薬、pDNA 希釈バッファー：
 添付バッファー (SFA)、他社品推奨バッファー (他社品)
 検出時間：トランスフェクション後 48 時間

■ HeLa 細胞におけるトランスフェクションエンハンサー効果【ScreenFect™ A plus (SFA plus), SFA P-reagent】

HeLa 細胞 (接着系) へ GFP 融合遺伝子の導入実験を行い、蛍光顕微鏡にて導入効率を比較しました。ScreenFect™ A plus と SFA P-reagent を用いることで、他社製品と同等以上の導入効率を示しました。

リバーストランスフェクション (1-STEP)		フォワードトランスフェクション (2-STEP)	
SFA plus	+SFA P-reagent	A社 従来品	A社 新製品+添加剤

(SFA plus、他社品共通トランスフェクション条件)
 播種細胞数：1×10⁵ cells/well (24well プレート)
 プラスミド DNA 量：250 ng/assay
 トランスフェクション試薬混合比率：
 pDNA 量 (μg)：トランスフェクション試薬 (μl)=1：4
 pDNA 量 (μg)：エンハンサー (μl)=1：2

トランスフェクション試薬、pDNA 希釈バッファー：
 添付バッファー (SFA plus)、他社品推奨バッファー (他社品)
 検出時間：24 時間後確認

ScreenFect™ 関連の詳細情報 (データ・プロトコルなど) は専用ホームページに掲載しています。導入実績データベースにて遺伝子導入データをご確認いただけます。
 URL：http://screenfect.jp/ja/



ScreenFect™ シリーズ専用 HP でサンプル好評受付中!!

上記 URL または QR コードより専用 HP へお進みになり、サンプル依頼フォームよりお問合せ下さい。現在、サンプル使用後アンケートにお答え下さった方を対象にレーザーポインターをお送りしています。
 ※ QR コードは楽天ソールウェアの登録商標です。



ゼミや研究発表会などで大活躍間違いなし!

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
293-73201	ScreenFect™ A	[R]	0.2ml	8,000
299-73203			1ml	30,000
297-73204			1ml×5	120,000
293-77101	ScreenFect™ A plus	[R]	0.2ml	9,000
299-77103			1ml	35,000
297-77104			1ml×5	140,000
299-75001	ScreenFect™ siRNA	[R]	0.2ml	11,000
295-75003			1ml	40,000
293-75004			1ml×5	175,000
293-75901	ScreenFect™ mRNA	[R]	0.2ml	12,000
299-75903			1ml	47,000
297-75904			1ml×5	215,000
191-18331	SFA P-reagent	[F]	100μl	9,000
197-18333			500μl	20,000

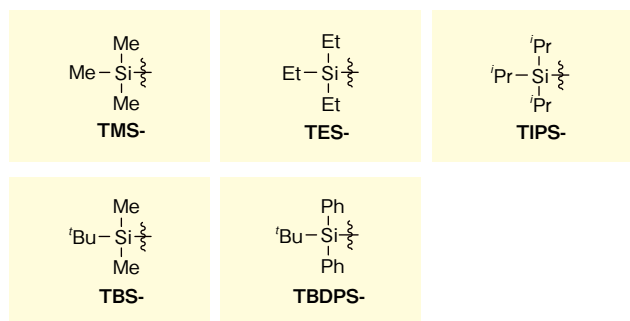
ラインアップ追加 !!



有機合成用 シリル系保護基

有機合成化学において反応性の高い官能基は、不活性な官能基に変換する、もしくは保護基を用いてマスクします。これまでに多くの保護基が開発されており、天然物の全合成研究では、さまざまな保護基の脱着を経て目的物の合成が行われています。

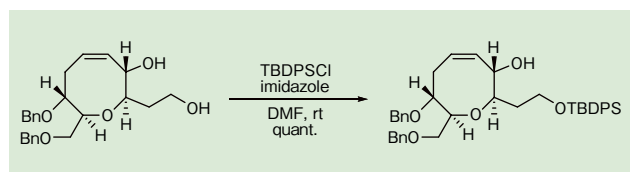
この度、水酸基の保護基として知られるシリル系保護基のラインアップを追加しました。



保護基の酸・塩基に対する耐性

シリルエーテル	半減期 (5% NaOH-95% MeOH)	半減期 (1% HCl-MeOH, 25°C)
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ OTMS	<1 min	<1 min
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ OTBS	24 h	< 1 min
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ OTIPS	24 h	55 min
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ OTB DPS	24 h	225 min

反応例



【参考文献】

- Davies, J. S., Higginbotham, C. L., Tremeer, E. J., Brown, C. and Treadgold, R. C.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.*, 3043 (1992).
- Kadota, I., Sato, Y., Fujita, N., Takamura, H. and Yamamoto, Y.: *Tetrahedron*, **71**, 6547 (2015).

TMS系

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
200-08002	Chlorotrimethylsilane	TMSCl	和光特級	10ml	2,850
202-08001				250ml	9,700
020-15512	Bromotrimethylsilane	TMSBr	-	25ml	12,500
305-60461	Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate	TMSOTf	信越化学工業株	10g	4,950
303-60462				25g	10,120

TES系

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
033-25091				5g	3,700
031-25092	Chlorotriethylsilane	TESCl	有機合成用	25g	10,000
039-25093				100g	31,000

TIPS系

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
209-20471				5g	4,000
207-20472	Triisopropylsilyl Chloride	TIPSCl	有機合成用	25g	11,000
205-20473				250g	60,000

TBS系

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
309-60121				10g	7,040
305-60123	<i>t</i> -Butyldimethylchlorosilane	TBSCl	信越化学工業株	50g	27,280
303-60124				100g	46,640
020-13231	<i>t</i> -Butyldimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate	TBSOTf	-	10ml	17,700
026-18951	<i>t</i> -Butyldimethylsilane	TBSH	有機合成用	5g	5,000
024-18952				25g	12,000

TB DPS系

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
324-72682	<i>t</i> -Butylchlorodiphenylsilane	TB DPSCl	株ワコーケミカル	25g	8,500
322-72683				100g	30,000

関連商品

脱保護剤

コード No.	品名	略語	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
208-20201	Tetrabutylammonium Fluoride, Tetrahydrofuran Solution (ca. 1 mol/l)	TBAF	有機合成用	100ml	6,700
200-20205				500ml	19,000
208-10931	Tetrabutylammonium Fluoride Trihydrate	TBAF	和光一級	10g	11,500

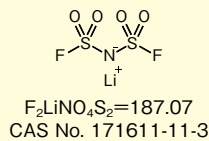
リチウム塩 品目追加



リチウムビス(フルオロスルホニル)イミド

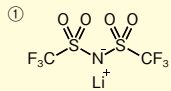
リチウム塩は、リチウムイオン二次電池の電解質など電気化学研究において汎用されています。この度、カウンターアニオンに対称構造を有するリチウムビス(フルオロスルホニル)イミドの発売を開始しました。一般的なリチウム塩と比較して、低い融点と高い電気伝導率を示すことが知られています。電解質やイオン液体電解液の合成原料としてご検討下さい。

●融点(文献値)：140℃



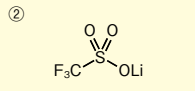
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
122-06632	Lithium Bis(fluorosulfonyl) imide	有機合成用	25g	14,000
124-06631	[Li(FSO ₂) ₂ N (通称: LiFSI)]		100g	41,000

関連商品



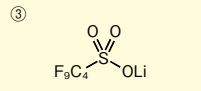
$C_2F_6LiNO_4S_2=287.09$
CAS No. 90076-65-6

●融点(文献値)：
234-238℃



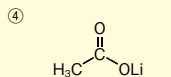
$CF_3SO_3Li=156.01$
CAS No. 33454-82-9

●融点(文献値)：423℃



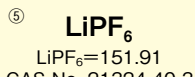
$C_4F_9LiO_3S=306.03$
CAS No. 131651-65-5

●融点(文献値)：
370-380℃



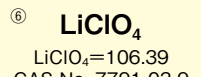
$CH_3COOLi=65.99$
CAS No. 546-89-4

●融点(文献値)：
280-285℃



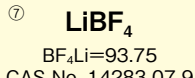
$LiPF_6=151.91$
CAS No. 21324-40-3

●融点(文献値)：
165-175℃



$LiClO_4=106.39$
CAS No. 7791-03-9

●融点(文献値)：236℃



$BF_4Li=93.75$
CAS No. 14283-07-9

●融点(文献値)：293℃

No.	コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
①	129-06642	Lithium Bis(trifluoromethanesulfonyl) imide	有機合成用	25g	6,900
	121-06641	[Li(CF ₃ SO ₂) ₂ N (通称: LiTFSI)]		100g	17,500
②	128-03792	Lithium Trifluoromethanesulfonate [LiCF ₃ SO ₃]	和光一級	25g	6,300
③	327-61481	Lithium 1,1,2,2,3,3,4,4,4-Nonafluoro-1-butananesulfonate [LiC ₄ F ₉ SO ₃]	機フコーケミカル	5g	3,600
	325-61482			25g	7,750
④	123-01542	Lithium Acetate	和光特級	25g	2,000
	127-01545			500g	7,800
⑤	121-05921	Lithium Hexafluorophosphate	電池研究用	10g	4,500
	127-05923			50g	8,500
⑥	123-06042	Lithium Perchlorate	電池研究用	25g	6,000
	125-06041			100g	18,000
⑦	128-06031	Lithium Tetrafluoroborate	電池研究用	5g	5,500
	126-06032			25g	12,000

機能性が注目されています



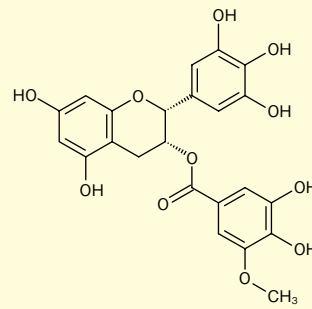
メチル化カテキン標準品

近年、メチル化カテキンが持つ抗アレルギー作用などが注目され研究が進められています。茶葉中に含有されるポリフェノールの1種で、茶葉に最も多く含まれるカテキンである「エピガロカテキンガレート」の一部がメチル化された「(-)-Epigallocatechin 3-(3'-O-Methyl)gallate」をメチル化カテキン標準品としてご用意しました。

●化学名：(-)-Epigallocatechin 3-(3'-O-Methyl)gallate

●含量 (HPLC)：98.0%以上

●外観：白色～うすい赤色、結晶性粉末～粉末



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-18591	Methylated Catechin Standard	食品分析用	5mg	39,000

関連商品

カテキン類標準品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
038-23461	(+)-Catechin Standard	食品分析用	100mg	38,000
054-08881	(-)-Epicatechin Standard	食品分析用	20mg	25,000
051-08891	(-)-Epicatechin Gallate Standard	食品分析用	20mg	29,000
059-08951	(-)-Epigallocatechin Standard	食品分析用	20mg	27,000
056-08961	(-)-Epigallocatechin Gallate Standard	食品分析用	50mg	21,000
075-06331	(+)-Gallocatechin Standard	食品分析用	20mg	30,000

分析カラム

コードNo.	品名	備考	容量	希望納入価格(円)
231-60533	Wakopak [®] Navi C18-5	—	1本	48,000
239-60534	4.6mm×250mm (W)	再充てん	1本	38,000
235-60531	Wakopak [®] Navi C18-5	—	1本	48,000
233-60532	4.6mm×250mm (D)	再充てん	1本	38,000

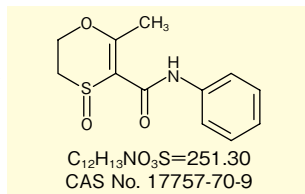
Ref: 2~10℃保存 [F]: 20℃保存 [30]: 80℃保存 [50]: 150℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。掲載内容は、2016年10月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

ポジティブリスト関連標準品 品目追加 Wako 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。

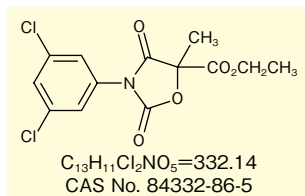
■カルボキシンスルホキシド体標準品

化学名：5,6-Dihydro-3-carboxanilide-2-methyl-1,4-oxathiin-4-oxide
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末



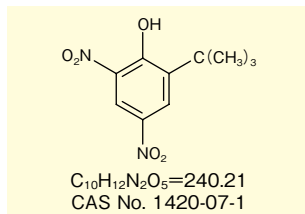
■クロゾリネート標準品

化学名：(±)-Ethyl 3-(3,5-Dichlorophenyl)-5-methyl-2,4-dioxo-5-oxazolidinocarboxylate
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末
備 考：殺菌剤



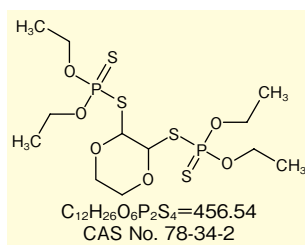
■ジノテルブ標準品

化学名：2-*t*-Butyl-4,6-dinitrophenol
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：黄色、結晶性粉末～粉末
備 考：除草剤



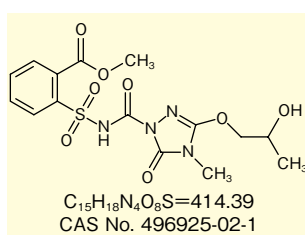
■ジオキサチオン標準品 (異性体混合物)

化学名：*S,S'*-(1,4-Dioxane-2,3-diyl) *O,O',O',O'*-Tetraethyl Bis(phosphorodithioate)
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：うすい黄色～黄色、澄明の液体
備 考：ダニ駆除剤



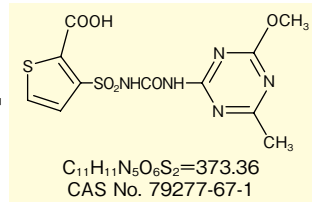
■プロポキシカルバゾン代謝産物 A 標準品

化学名：Methyl 2-[[[4,5-Dihydro-3-(2-hydroxypropoxy)-4-methyl-5-oxo-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl]carbonyl]amino]sulfonyl]benzoate
含量 (HPLC)：97.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末



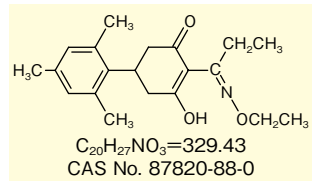
■チフェンスルフロン標準品

化学名：3-(4-Methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-ylcarbonylsulfamoyl)thiophen-2-carboxylic 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



■トラロコキシジム標準品

化学名：2-[1-(Ethoxyimino)propyl]-3-hydroxy-5-mesitylcyclohex-2-enone
含量 (HPLC)：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)
037-25011	Carboxin Sulfoxide Standard 	残留農薬試験用	20mg	25,000
037-24911	Chlozolinat Standard 	残留農薬試験用	20mg	30,000
042-34031	Dinoterb Standard 	残留農薬試験用	100mg	14,000
049-34041	Dioxathion Standard (mixture of isomers)  	残留農薬試験用	100mg	30,000
164-27331	Propoxycarbazone Metabolite A Standard 	残留農薬試験用	50mg	27,000
203-20371	Thifensulfuron Standard 	残留農薬試験用	100mg	25,000
207-20391	Tralkoxydim Standard 	残留農薬試験用	100mg	13,000

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。

当社試薬ホームページ→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 取扱い品目一覧 (16.07)

無アルデヒドエタノールを使用して調製 Wako 局方一般試験法用 水酸化カリウム・エタノール液

局方一般試験法用規定液は、日本薬局方に準じた調製及び標定を行い、濃度を保証した商品です。この度、水不溶性酸類、油脂などの中和、けん化に用いられる水酸化カリウム・エタノール液を追加しました。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
164-27995	0.1mol/L Potassium Hydroxide-Ethanol Solution 	局方一般試験法用	500ml	4,800

[次頁に続く]

関連商品

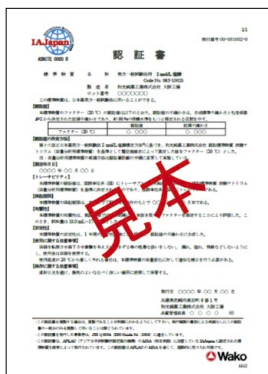
局方一般試験法用規定液

当社では国内試薬メーカーで初めて局方一般試験法用の容量分析用標準液について（独）製品評価技術基盤機構・認定センター（IAJapan）が運営するASNITE（製品評価技術基盤機構認定制度）認定プログラムによって、標準物質生産者認定を取得し、認証標準物質の供給を行っています（下記*印商品）。

認証標準物質を購入頂いたお客様には、認定シンボルを付した認証書を発行することができます（認証書発行の際にはお客様の郵便番号、住所、宛先が必要となります）。

〈特長〉

- ・認定シンボルを付した認証書を発行
認証書内容…特性値（ファクター）、不確かさ、保証期限、測定年月日、発行日



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
083-10025	2mol/L Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
080-10035	1mol/L Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800
087-10045	0.5mol/L Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
084-10055	0.2mol/L Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
082-10095	0.1mol/L Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
085-10105	0.05mol/L Hydrochloric Acid	局方一般試験法用	500ml	2,200
196-17605	0.5mol/L Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
190-17625	0.25mol/L Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
193-17615	0.05mol/L Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800
197-18115	0.1mol/L Silver Nitrate Solution	局方一般試験法用	500ml	4,300
198-17925	0.1mol/L Sodium Thiosulfate Solution	局方一般試験法用	500ml	2,100
191-17915	1mol/L Sodium Hydroxide Solution	局方一般試験法用	500ml	1,900
194-17905	0.1mol/L Sodium Hydroxide Solution	局方一般試験法用	500ml	1,900

* 認証標準物質

抗体精製用試薬



プロテイン A, 組換え体

プロテイン G, 組換え体

本品は、プロテイン A 及びプロテイン G の組換え体（大腸菌由来）です。アガロースビーズなどの担体に固定化し、培養上清や腹水中から抗体を回収するために使用されます。抗体の動物種やサブクラスによって、プロテイン A、プロテイン G に対する結合力が異なります。

本品は、りん酸緩衝液中で凍結乾燥をしています。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
160-26191	Protein A, recombinant [F°]	免疫化学用	1mg	6,500
166-26193			5mg	12,000
164-26194			25mg	35,000
166-26171	Protein G, recombinant [F°]	免疫化学用	1mg	8,000
162-26173			5mg	25,000
160-26174			10mg	40,000

5th IIS Symposium・32nd Wako Workshop Joint Symposium

睡眠・覚醒の謎に挑む Solving the mystery of sleep

総合企画：柳沢 正史 先生

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIS）機構長

主催：筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIS）・和光純薬工業株式会社 合同シンポジウム実行委員会

日時：2016年12月12日（月）AM9：30～

会場：東京コンファレンスセンター・品川
東京都港区港南 1-9-36 アレア品川

定員：300名（申し込み先着順、定員になり次第、締め切らせていただきます。）

申込方法：当社ホームページをご参照願います。

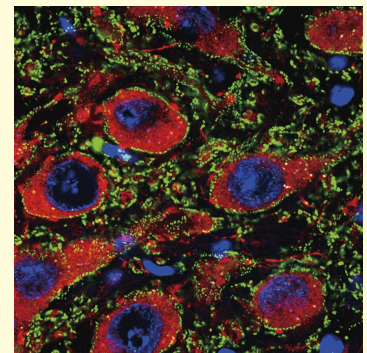
演題：当社ホームページをご参照願います。

講演は要旨集を含めてすべて英語です。あらかじめご了承ください。

※終了後に情報交換会（有料）を開催します。

シンポジウム詳細ページ：<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/sonota/2016Workshop/>

お問合せ先：和光純薬工業株式会社 Wako ワークショップ係 TEL 03-3270-8243



©Mari Hondo

Glra1 immunoreactivity (green) on the surface of cholinergic trigeminal motor neurons (red) in Glra1^{flox/flox} mice

中低圧液体クロマトグラフィーを使用したタンパク質の精製に **Wako** Ni-NTA カートリッジ

Ni-アガロースは、6×ヒスチジン融合タンパク質をアフィニティー精製するために使用されます。本品はNi-アガロースをカラムに詰めたプレパック品となります。Ready-to-use でご使用いただけます。

特長

- 低コスト
- Ready-to-use で使用可能
- 中低圧液体クロマトグラフィーに対応

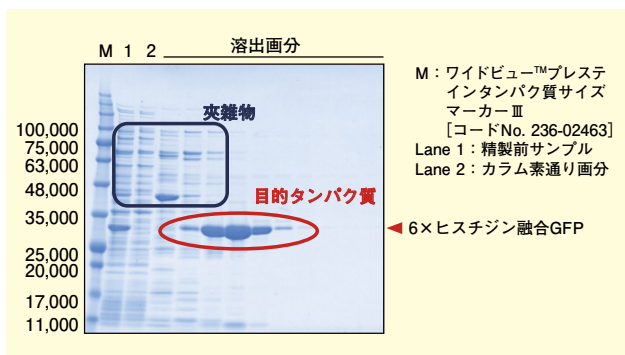


製品仕様

- ゲルマトリックス：6% 架橋アガロース
- リガンド：NTA（ニトリロ三酢酸）
- ビーズサイズ：50～170 μm
- タンパク質結合容量*1：≥ 50 mg/ml
- 推奨流速：5 ml/min

*1 6×His融合GFP（分子量26,000）の場合です。

データ

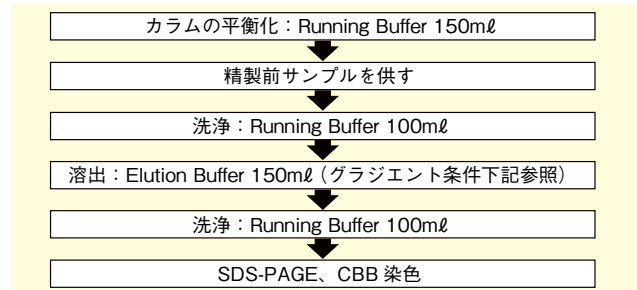


大腸菌に発現させた6×ヒスチジン融合GFPを超音波破砕法により回収、精製前サンプルとし、以下記載条件で実験を行った。

夾雑物が少ない高純度の目的タンパク質を回収できた。

〈実験条件〉

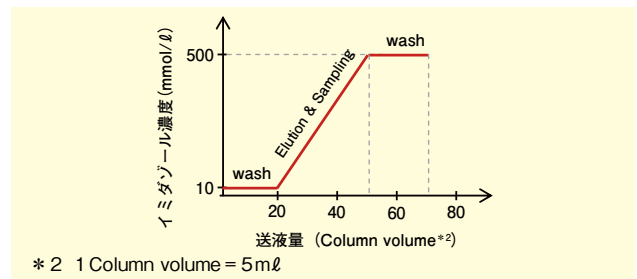
タンパク質精製の実験フロー



各バッファー組成

- Running Buffer：20mmol/l Sodium Phosphate(pH 7.4), 500mmol/l Sodium Chloride, 10mmol/l Imidazole
- Elution Buffer：20mmol/l Sodium Phosphate(pH 7.4), 500mmol/l Sodium Chloride, 10～500mmol/l Imidazole

グラジエント条件



※バッファー組成はサンプルに応じてご検討下さい。

試薬に対する安定性

本品は、各試薬に対し下記濃度までご使用いただけます。

還元剤	30mmol/l Reduced glutathione
	20mmol/l β-Mercaptoethanol
	10mmol/l DTT
	10mmol/l DTE
変性剤	0.3% SDS
	8mol/l Urea
界面活性剤	6mol/l Guanidine Hydrochloride
	10mmol/l Triton® X-100
他添加剤	10mmol/l Tween® 20
	50% Glycerol
	1mmol/l EDTA
	20% Ethanol

TritonはDow Chemical Companyの登録商標です。

TweenはICI Americas, Inc.の登録商標です。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 146-09731	Ni-NTA	遺伝子研究用	1本(5ml)	13,000
NEW 142-09733	Cartridge		1本(5ml)×5	55,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
149-09684	Ni-NTA Agarose HP	遺伝子研究用	2ml(NET 1ml)	8,500
145-09681			10ml(NET 5ml)	13,000
141-09683			100ml(NET 50ml)	100,000

Ⓡ…2～10℃保存 E…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10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。

中枢神経染色試薬



プロテイン銀

プロテイン銀は、ボディアン染色に用いられる試薬です。ボディアン染色は、主にヒト脳（大脳、小脳、脊髄など）の樹状突起、神経原線維変化、軸索の染色に用いられる染色法です。他動物脳も同様に染色可能です。

本品は、染色性能確認済みのボディアン染色に最適なプロテイン銀です。ボディアン染色でお困り方は、ぜひ、本品をお試し下さい。

染色方法例

1. 1%プロテイン銀溶液作製

プロテイン銀 0.5g を計り、コプリンジャーに入れ、蒸留水を 50ml 加える（プロテイン銀溶液）。

自然に溶解するまで待つ（約1時間）。

※急ぎたい場合

ビーカーなどで溶解しゆっくりスターラーで攪拌することも可能です。

プロテイン銀溶液に、4g 銅粒子を添加する。

2. 染色処理

染色したいスライドを1.のコプリンジャーに入れる。プロテイン銀溶液 50ml の場合、6枚前後を推奨します。

40℃ 孵卵器で一晩静置する（12-18時間）。

長すぎると銀反応が進み黒色が強調されるので注意して下さい。

3. 還元液作製

〈組成〉

DW	100ml
ハイドロキノン	1g
ホルマリン	5ml

4. 還元処理

DW 約1分



DW 約1分



還元液 10分

5. 塩化金処理

還元処理後、水洗いを3分行い、下記処理を行う。

一旦、白くなりますが徐々に褐色調を帯びてきます。

DW 約1分



1%塩化金 40-60分

6. 1%しゅう酸処理

徐々に赤紫色を呈してきます。

DW 約1分



DW 約1分



1%しゅう酸 5分

7. 定着処理

DW 約1分



DW 約1分



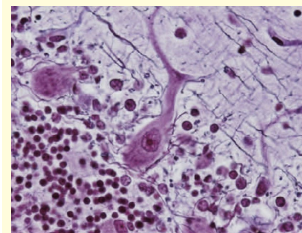
2%チオ硫酸 1分

8. 脱水・透徹・封入

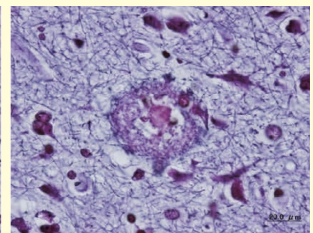
【注意点】

- 標準的な方法で染色可能ですが長時間の銀反応は避けて下さい。
- 良好な染色性は温度・時間に影響を受けることから、各研究機関にあった適応条件を検討して下さい。
- 固定は酸性ホルマリン > 中性緩衝ホルマリン > パラホルムアルデヒドの順で条件が良く、長期固定でも染色性に影響はないと考えられます。

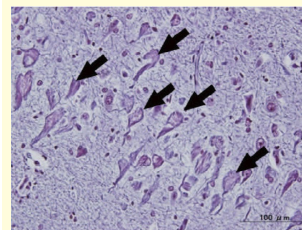
染色例



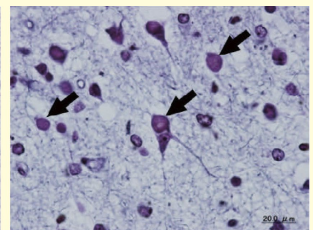
小脳
軸索(黒色)、プルキンエ細胞(赤紫色)顆粒球(赤紫色)



大脳
老人斑(赤紫色)及びアミロイドコア(赤色)



大脳
神経原線維変化(矢印:赤紫〜黒褐色)



大脳(ピック病)
ピック球(矢印:赤褐色)

(データご提供：(独) 国立精神・神経医療研究センター病院 臨床検査部)

【参考文献】

- 国仲伸男, 佐藤裕子, 児玉徳志, 田島紹吉, 齊藤祐子: 第66回国立病院 総合医学会講演抄録集, 775 (2012).
- Kuninaka, N., Sato, Y., Tajima, S., Murayama, S., Saito, Y.: *Neuropathology*, **33** (6), 376 (2013).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
198-18101	Silver Protein	病理研究用	3g	15,000

高血圧症の研究に



アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤

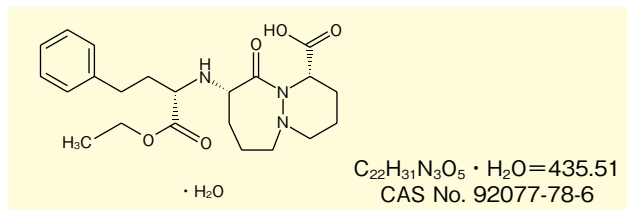
アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤は、ACE活性を阻害することにより、昇圧物質であるアンジオテンシンIIの生成を抑制します。

■ シラザプリル水和物

本品は、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤です。体内で活性代謝物シラザプリラートに変換され、血中や血管壁などのACE活性を阻害します。また、ブラジキニンの不活性化抑制作用及び、血管拡張性プロスタグランジンの産生促進作用も有しており、これらも降圧作用に寄与していると考えられています。

製品概要

- 外観：白色～うすい黄色、結晶～粉末
- メタノール溶状：試験適合
- 含量(HPLC)：90.0%以上

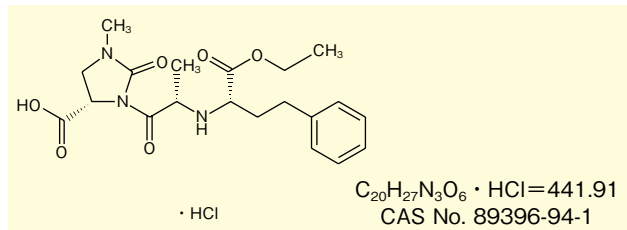


■ イミダプリル塩酸塩

本品は、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤です。体内で加水分解により活性代謝物であるイミダプリラートに変換され、血中や組織中のACE活性を阻害します。高血圧症や糖尿病性腎症の治療薬開発や、薬理作用研究などに有用です。

製品概要

- 外観：白色～ほとんど白色、結晶～粉末
- 水溶状：試験適合
- 含量(HPLC)：90.0%以上



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
039-22771	Cilazapril Hydrate	F [○] 生化学用	10mg	20,000
035-22773			100mg	120,000
092-06701	Imidapril Hydrochloride	Ref [○] 生化学用	20mg	15,000
098-06703			200mg	90,000

関連商品

アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
039-20951	Captopril	薬理研究用	1g	3,500
035-20953			5g	10,000
037-20952			25g	30,000
051-06711	Enalapril Maleate	生化学用	1g	8,000
057-06713			5g	26,000
128-04711	Lisinopril Dihydrate	生化学用	1g	9,700
124-04713			5g	26,000
187-02761	Ramipril	Ref [○] 生化学用	25mg	15,000
183-02763			100mg	51,000

測定キット

コードNo.	メーカーコード	品名	メーカー	容量	希望納入価格(円)
349-08921	A502	ACE Kit-WST アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性測定キット	(株)同仁化学研究所 Ref [○]	100テスト	70,000

レニン阻害剤

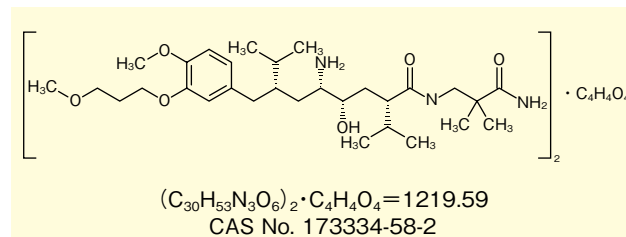


アリスキレンヘミフマル酸塩

本品は、レニン阻害剤です。血圧や体液、電解質の調節に関連するレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系(RAA系)の出発物質であるアンジオテンシノーゲンをアンジオテンシンIに変換する酵素であるレニンを阻害することにより、RAA系の最終物質であるアンジオテンシンIIの生成を抑制し、降圧作用を示します。

製品概要

- 外観：白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末又は塊
- 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)
013-26731	Aliskiren Hemifumarate	Ref [○] 薬理研究用	50mg	10,000
019-26733			500mg	60,000

Ref[○]…2～10℃保存 F[○]…-20℃保存 30[○]…-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10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。

持続性 Ca 拮抗剤



シルニジピン

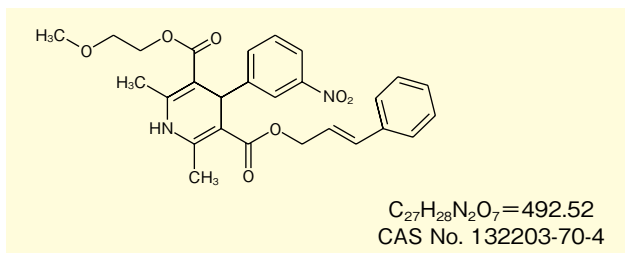
本品は、ジヒドロピリジン系のカルシウム拮抗剤です。L型カルシウムチャンネルを遮断することにより、血管拡張作用を示します。さらに、血管組織への移行性が高いため、作用の持続時間が比較的長いと考えられています。また、N型カルシウムチャンネルも遮断するため、交感神経終末からのノルアドレナリンの放出を減少させ、心拍数の増加を抑制する作用も有します。

特長

- L型カルシウムチャンネル遮断
- N型カルシウムチャンネル遮断

製品概要

- 外観：うすい黄色～黄色、結晶性粉末～粉末
- クロロホルム溶状：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)
036-25101	Cilnidipine	薬理	10mg	5,600
032-25103		研究用	50mg	15,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-24951	Amlodipine	細胞	100mg	6,500
017-24953		生物学用	1g	18,000
017-18181	Amlodipine Besilate	生化学用	10mg	4,000
013-18183			50mg	14,500
047-20311	Diltiazem Hydrochloride	生化学用	1g	4,300
043-20313			5g	11,200
145-06381	Nicardipine Hydrochloride	生化学用	1g	4,000
141-06383			5g	12,000
141-05783	Nifedipine	生化学用	1g	2,700
145-05781			5g	3,100
143-05782			25g	8,800
141-07101	Nisoldipine	生化学用	10mg	4,400
147-07103			50mg	14,500
142-06411	Nitrendipine	生化学用	200mg	12,600
222-00781	Verapamil Hydrochloride	生化学用	1g	4,100
228-00783			10g	22,000

骨吸収抑制剤



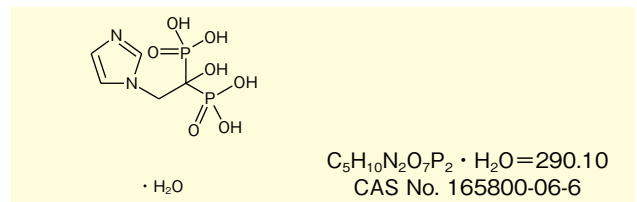
ゾレドロン酸一水和物

本品は、強力な骨吸収抑制作用を有する第3世代のビスホスホネート剤です。破骨細胞の形成を阻害し、アポトーシスを誘導します。

骨粗鬆症や、高カルシウム血症の治療薬開発や、がんの骨転移による骨病変予防の研究に有用です。

製品概要

- 外観：白色～わずかにうすい黄色、結晶性粉末～粉末
- 水溶状：試験適合
- 水分：5.0～7.0%
- 含量(HPLC)：98.0%以上



【参考文献】

1) 友尾孝、鈴木理之：日本薬理雑誌, 126, 353 (2005).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
269-02191	Zoledronic Acid	薬理	25mg	10,000
265-02193	Monohydrate	研究用	100mg	20,000

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)
第1世代 ビスホスホネート剤					
571-25421	C3449	Clodronate Disodium	LKT	10mg	10,400
第2世代 ビスホスホネート剤					
012-22661	-	Alendronate Sodium	薬理	100mg	13,000
018-22663	-	Salt Trihydrate	研究用	500mg	55,000
575-25441	I0502	Ibandronate	LKT	50mg	28,300
第3世代 ビスホスホネート剤					
189-02461	-	Risedronate Sodium	薬理	100mg	19,000
185-02463	-	Salt n-Hydrate	研究用	500mg	62,000

活性型ビタミンD3

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-24621	Alfacalcidol	生化学用	10mg	12,500
018-24623			100mg	87,000
034-24921	Calcitriol	薬理 研究用	1mg	15,000

エストロゲン

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
054-08521	Estradiol Valerate	生化学用	1g	25,000
050-08523			5g	99,000
059-08191	Estriol	生化学用	250mg	4,000
055-08193			1g	11,000

Ref²…2～10℃保存 Ref³…-20℃保存 Ref⁴…-80℃保存 Ref⁵…-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10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。

品目追加!



発生に関わるサイトカイン

多細胞生物において、卵が受精し細胞分裂を経て細胞の集合体である個体に成長するまでに、さまざまなシグナル伝達に関わっています。当社は、初期発生のシグナル伝達に関わるサイトカインを多数揃えています。この度、DKK-1、LIF、ソニックヘッジホッグの3品目を追加しました。

各サイトカインの製品詳細は、検索サイト [Siyaku.com](http://siyaku.com) をご覧下さい。大入り包装品の価格・納期は当社代理店までお問合せ下さい。

※アニマルフリーサイトカインは、製造工程において動物由来原料を一切使用せずに大腸菌を培養し、発現させ精製したサイトカインです。通常のサイトカインと同じようにご使用いただけます。

Wntシグナル関連

コード No.	品名	略名・別名	動物種	容量	希望納入価格(円)
NEW 044-34231	DKK-1, Human, recombinant	DKK-1	Human	10µg	39,000
040-34233				1mg	照会
061-05151	sFRP-1, Human, recombinant	sFRP-1		20µg	39,000
181-02801	R-Spondin-1, Human, recombinant	R-Spo1	Human	20µg	39,000
185-02804				500µg	照会
180-02871	R-Spondin-2, Human, recombinant	R-Spo2	Human	20µg	39,000
186-02873				1mg	照会
187-02881	R-Spondin-3, Human, recombinant	R-Spo3	Human	20µg	39,000
183-02883				1mg	照会
231-02251	Wnt-1, Human, recombinant	Wnt-1		10µg	39,000
239-02431	Wnt-7a, Human, recombinant	Wnt-7a		15µg	39,000

アクチビン、BMP

コード No.	品名	略名・別名	動物種	容量	希望納入価格(円)
014-23961	Activin A, Human, recombinant, Animal-derived-free	Activin A	Human	10µg	42,000
018-23964				500µg	照会
026-14811	Bone Morphogenetic Protein 2, Human, recombinant	BMP-2	Human	5µg	35,500
022-14813				100µg	照会
022-17071	Bone Morphogenetic Protein 4 (truncated), Human, recombinant	BMP-4	Human	10µg	39,000
020-18851	Bone Morphogenetic Protein 4 (truncated), Human, recombinant, Animal-derived-free			10µg	39,000
024-18854		500µg	照会		
023-18461	Bone Morphogenetic Protein 4, Mouse, recombinant	BMP-4	Mouse	10µg	39,000
027-18464				500µg	照会
022-16731	Bone Morphogenetic Protein 6, Human, recombinant	BMP-6		10µg	39,000
029-16741	Bone Morphogenetic Protein 7, Human, recombinant	BMP-7	Human	10µg	39,000
020-15073	Bone Morphogenetic Protein 13, Human, recombinant	BMP-13		50µg	39,000

FGFファミリー

コード No.	品名	略名・別名	動物種	容量	希望納入価格(円)
064-04781	Fibroblast Growth Factor (acidic), Human, recombinant	acidicFGF/FGF1/aFGF	Human	50µg	39,000
067-05371	Fibroblast Growth Factor (acidic), Human, recombinant, Animal-derived-free			50µg	39,000
063-05373				1mg	照会
061-06631	Fibroblast Growth Factor (acidic), Mouse, recombinant		Mouse	50µg	39,000
067-06633				1mg	照会
064-04541	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant	basicFGF/FGF2/bFGF	Human	50µg	39,500
060-04543				100µg	67,000
068-04544				1mg	照会
064-05381	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant, Animal-derived-free			50µg	39,500
068-05384				100µg	67,000
060-05383				1mg	照会
062-06661	bFGF Solution, MF		Human	50µl	80,000
068-06663	※MF登録品です。			50µl×4	260,000
062-05181	Fibroblast Growth Factor (basic), Mouse, recombinant		Mouse	50µg	39,500
062-06041	Fibroblast Growth Factor (basic), Mouse, recombinant, Animal-derived-free			50µg	39,500
068-06043			1mg	照会	
062-04341	Fibroblast Growth Factor 4, Human, recombinant	FGF4	Human	25µg	39,500
065-06031	Fibroblast Growth Factor 4, Human, recombinant, Animal-derived-free			25µg	39,500
069-06034				500µg×2	照会
069-04351	Fibroblast Growth Factor 5, Human, recombinant	FGF5		50µg	39,500
066-04361	Fibroblast Growth Factor 6, Human, recombinant	FGF6		25µg	39,500
119-00661	Keratinocyte Growth Factor, Human, recombinant	KGF/FGF7	Human	10µg	34,000
116-00811	Keratinocyte Growth Factor, Human, recombinant, Animal-derived-free			10µg	40,000
112-00813				1mg	照会
063-04371	Fibroblast Growth Factor 8, Human, recombinant	FGF8	Human	25µg	39,500
069-04373				500µg	照会
067-06231	Fibroblast Growth Factor 8, Human, recombinant, Animal-derived-free			25µg	39,500
061-06234				500µg	照会
061-05911	Fibroblast Growth Factor 9, Human, recombinant	FGF9	Human	20µg	39,500
066-06201	Fibroblast Growth Factor 9, Human, recombinant, Animal-derived-free			20µg	39,500
062-06203				1mg	照会
067-04391	Fibroblast Growth Factor 9, Mouse, recombinant		Mouse	10µg	39,500
060-04401	Fibroblast Growth Factor 10, Human, recombinant	FGF10	Human	25µg	39,500
069-06051	Fibroblast Growth Factor 10, Human, recombinant, Animal-derived-free			25µg	39,500
065-06053		1mg	照会		
067-04411	Fibroblast Growth Factor 16, Human, recombinant	FGF16		25µg	39,500
064-04421	Fibroblast Growth Factor 17, Human, recombinant	FGF17	Human	25µg	39,500
068-04441	Fibroblast Growth Factor 19, Human, recombinant	FGF19		25µg	39,500
065-04451	Fibroblast Growth Factor 20, Human, recombinant	FGF20		15µg	39,500
068-05161	Fibroblast Growth Factor 21, Human, recombinant	FGF21		25µg	39,500
060-05741	Fibroblast Growth Factor 23, Human, recombinant	FGF23		20µg	39,500

[次頁に続く]

Ⓜ…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10月時点での情報です。最新情報は、[siyaku.com](http://www.siyaku.com/) (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

その他

コード No.	品名	略名・別名	動物種	容量	希望納入価格 (円)
129-05601	LIF, Human, recombinant, Culture Supernatant	[F°]	Human	1ml	25,000
125-05603				1ml×10	130,000
125-06661	LIF, Human, recombinant, Animal-derived-free	[F°]		25µg	39,000
121-06663				1mg	照会
199-16051	StemSure® LIF, Mouse, recombinant, Solution	[F°]	Mouse	10 ⁶ units	30,000
195-16053				10 ⁶ units×10	150,000
145-08461	Nanog, Human, recombinant	[F°]	Human	20µg	39,000
198-18341	Sonic Hedgehog, Human, recombinant	[F°]		Shh	25µg
194-18343			500µg		照会

細胞培養用エタノール



CultureSure® エタノール

本品は、マイコプラズマ試験 / エンドトキシン試験 / 無菌試験済みのエタノールです。フィルター滅菌済みのため細胞培養に安心してご利用いただけます。

難水溶性成分（脂質など）の培地添加などにご使用下さい。

特長

- 0.1 µm フィルター滅菌、フィルター完全性試験済み
- マイコプラズマ試験 / エンドトキシン試験 / 無菌試験済み
- 密封性の高い硝子バイアル + テフロンゴム栓 + アルミシール

規格

試験項目	規格値
外観	無色澄明の液体
純度 (C ₂ H ₅ OH) (GC)	99.5% 以上
密度 (20°C)	0.789 ~ 0.791 g/ml
水分	0.2% 以下
不揮発物	5ppm 以下
酸 (CH ₃ COOHとして)	0.002% 以下
塩基 (NH ₃ として)	1ppm 以下
アルデヒド及びケトン (CH ₃ COCH ₃ として)	0.001% 以下
メタノール (CH ₃ OH)	0.02% 以下
2-プロパノール [(CH ₃) ₂ CHOH]	0.01% 以下
1-プロパノール (CH ₃ CH ₂ CH ₂ OH)	0.005% 以下
1-ブタノール [CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ OH]	0.005% 以下
過マンガン酸還元性物質	試験適合
硫酸着色物質	試験適合
エンドトキシン	1 EU/ml 未満
マイコプラズマ試験	試験適合
無菌試験	試験適合

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
039-24971	CultureSure® Ethanol	[国]	細胞培養用 10ml×10本	23,000

KY03-I 心筋細胞誘導法用 Wako

心筋分化培地

本品は、KY03-I を用いてヒト ES/iPS 細胞を心筋細胞に分化誘導する際に使用する液体培地です。

ヒト ES/iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導法は複数報告されていますが、それらの分化誘導法には血清や動物由来のタンパク質、高価なサイトカインが使用されています。一方、KY03-I を用いた分化誘導法は、血清や動物由来のタンパク質やサイトカインを使用する必要は無く、化合物のみでヒト ES/iPS 細胞を心筋細胞に分化誘導することができます。そのため、従来の分化誘導法で懸念されている動物由来物による感染リスクを回避でき、またコストを抑えることができます。

KY03-I 誘導法の特長

- 血清フリー、アニマルフリーであるため、感染リスクが低い
- プロテインフリーであるため、コストが低い
- 浮遊培養可能なため、大量培養できる

本誘導法概略

ヒト ES/iPS 細胞の中胚葉誘導後に KY03-I を通常 1 ~ 10 µmol/l で培養液に添加します。

誘導法詳細については、参考文献に記載されている条件を推奨します。

【参考文献】

1) Nakatsuji, N. and Minami, I.: WO/2015/182765.

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-25125	Cardio-Dif Medium for Protein Free Induction Method	[Ref]	細胞培養用 500ml	7,000

関連商品

心筋分化用試薬

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-24721	CultureSure® KY03-I	[F°]	細胞培養用 2mg	12,000
038-24723			細胞培養用 10mg	50,000
036-24724			細胞培養用 25mg	100,000
034-24801	CultureSure® A419259 Trihydrochloride	細胞培養用	1mg	10,000
030-24803			5mg	25,000
038-24804			25mg	100,000
038-23101	CultureSure® CHIR99021	[F°][国][III]	細胞培養用 1mg	12,000
034-23103			細胞培養用 5mg	40,000
017-20151	AG1478	[F°]	細胞生物学用 5mg	22,000
162-23591	Phorbol 12-Myristate 13-Acetate [PMA]	[F°]	細胞生物学用 1mg	8,400
168-23593			細胞生物学用 5mg	21,500
166-23594			細胞生物学用 10mg	39,000
247-00951	XAV939	細胞生物学用	5mg	13,000
243-00953			25mg	52,000
241-00954			100mg	180,000

ミクログリアマーカー



抗Iba1, モノクローナル抗体 (NCNP24)

Iba1 は、神経系のミクログリア特異的に発現している約 17kDa のタンパク質で、ミクログリアマーカーとしてしばしば使用されています。ミクログリアは、脳神経系における免疫機能を担っており、各種疾患（神経変性疾患、精神疾患、脳腫瘍、感染症）に関与することから近年、盛んに研究されています。

本品は、Iba1 を認識するマウスモノクローナル抗体です。ご好評頂いている抗 Iba1, ウサギ（コード No. 019-19741）とは由来動物が異なるため、多重免疫染色での用途が広がります。

特 長

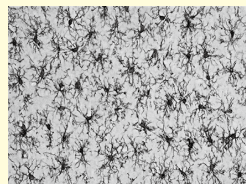
- 高い染色性と特異性を兼ね備えたモノクローナル抗体
- 他動物由来の抗体と組合せた二重染色が可能
- 免疫組織染色での実用評価済み

製品概要

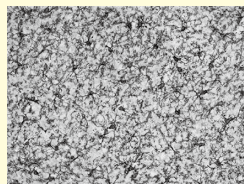
- クローン No. : NCNP 24
- サブクラス : マウス IgG1
- 組成 : 50% グリセロール/TBS, 0.05% アジ化ナトリウム
- 抗体濃度 : 1.1 ± 0.1 mg/ml
- 種交差性 : マウス、ラット、マーモセット
- 実用希釈倍率 : 免疫組織染色 1:500-2,000

使用例 免疫組織染色

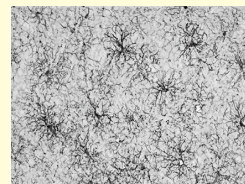
〈本品〉



ラット

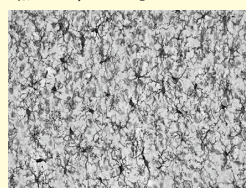


マウス

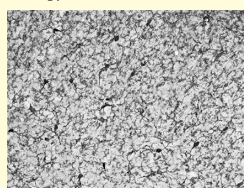


マーモセット

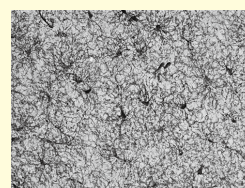
〈抗Iba1, ウサギ[コードNo. 019-19741]〉



ラット



マウス



マーモセット

サンプル : 下記動物の大脳皮質マイクローム切片
7 週齢 Wistar ラット、7 週齢 ICR マウス、成体マーモセット
染色法 : ABC 法+DAB 染色
一次抗体 : 上) 本品、下) 抗 Iba1, ウサギ [コード No. 019-19741]
二次抗体 : 上) ビオチン標識 抗マウス IgG、下) ビオチン標識 抗ウサギ IgG

ミクログリアが明確に染色でき、抗 Iba1, ウサギ [コード No. 019-19741] と同等以上の染色性が認められた。

(データご提供 : 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 佐柳先生、真鍋先生、一戸先生、高坂先生)

コード No.	品 名	規 格	容量	希望納入価格(円)
012-26723	Anti Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP24)	免疫化学用	10μl	10,000
016-26721			50μl	35,000

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	50μg	30,000
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting)	免疫化学用	50μg	30,000
016-26461	Anti Iba1, Rabbit, Biotin-conjugated	免疫化学用	100μl	45,000
013-26471	Anti Iba1, Rabbit, Red Fluorochrome (635)-conjugated	免疫化学用	100μl	45,000
015-25191	Anti Phosphorylated α-Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64)	免疫化学用	50μl	30,000
010-26481	Anti Phosphorylated α-Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64), Biotin-conjugated	免疫化学用	100μl	45,000
017-26491	Anti Phosphorylated α-Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64), FITC-conjugated	免疫化学用	100μl	45,000

今号の「化学大家」はお休みさせていただきます。

冷蔵 2~10℃保存 |

 冷凍 -20℃保存 |

 冷蔵 80℃保存 |

 冷凍 150℃保存 表示がない場合は室温保存です。
 特定 毒物 劇物 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 化学兵器禁止法 第一種指定物質 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
 掲載内容は、2016年10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. 4

2016年10月15日発行

発行責任者 上田 衛

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