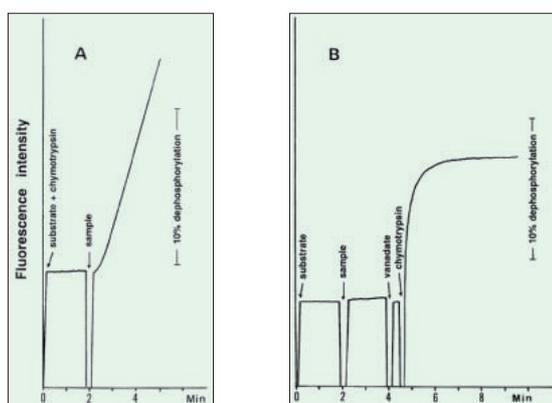


和光純薬工業株式会社



カイネティック測定

エンドポイント測定

骨芽細胞様細胞株細胞質画分を用いた PTP 活性測定  
(データ提供: 北海道大学歯学部歯科薬理学講座)

## 消光蛍光法を用いた PTP 活性アッセイキット

### Fluorospark™ PTP Assay Kit

Fluorospark™ PTP アッセイキットは、消光された蛍光性りん酸化ペプチドを基質として、RI 法に匹敵する感度で簡便にプロテインチロシンホスファターゼ(PTP)活性を測定することができます。マイクロプレートへの適用が可能ですので、多検体処理に非常に有用です。

#### 特長

1. RI 法に匹敵する感度(りん酸の絶対量としてサブピコモル)で測定可能
2. 遊離したりん酸を測定しませんので、りん酸存在下でも測定可能
3. ホモジニアスアッセイが可能
4. 細胞抽出物を用いた測定が可能
5. マイクロプレートを用いた多検体処理が可能

#### キット内容

Substrate Solution	110 $\mu$ l
Reaction Buffer	1.5ml
Chymotrypsin Solution	220 $\mu$ l
Calibrator	40 $\mu$ l
Stop Solution( 10mmol/l Vanadate )	220 $\mu$ l

299-55601 100 回用 30,000 円

キットの性能につきましては、P.9 をご参照下さい。

#### 目次

化学大家	
「ゲーリュサク」	島尾 永康 .....2
総説	
「プロテインチロシンホスファターゼの活性測定法」	西方 眞 .....6
「生体成分試料のダイオキシン分析」	
	中尾 晃幸、宮田 秀明 .....10
シリーズ	
< Talking of LAL >	
「第 37 話 リムルス試薬の活性化に伴う反応タイムコース」	土谷 正和 .....18
< How to アポトーシス >	
「第 8 話 アポトーシスとエンドヌクレアーゼ」	塩川 大介 .....20
< 脳科学一口メモ >	
「脳内 NO と海馬長期増強現象(LTP)」	
	吉岡 充弘、森 清 .....24
テクニカルレポート	
「Wakopak Combi ODS カラムについて」	
	上森 仁志 .....14
新製品フラッシュ	
フルオロスパーク™PTP アッセイキット	...1.9
VAI 社 除菌剤・潤滑剤	.....5
ワコーパック Combi ODS、多環芳香族炭化水素標準品、ワコーパック WS PAHs	.....15
Mallinckrodt Baker, Inc. スピーディスク SPE カラム、ベンゾジアゼピン系向精神薬	.....16
マトリックス修飾剤、プロテアーゼ阻害剤、混合品	.....17
ピラヌバ(骨染色試薬、㈱サンギ BMP カクテル 他	...19
活性型組換えカスパーゼ 他	.....22
タンパク質標準品、IgG 溶液、アスコルビン酸 2-グルコシド、ビタミン D <sub>3</sub> レセプター、ヒト、組換え体	...23
抗 sGC、モノクローナル抗体	.....25
日本レーザ電子(株) GTMASS システム、SPR670、SPR-CELLIA	.....26
MPI 社 Alexa Fluor 標識抗体 他	.....27
OPD 錠、DAB 錠	.....28
リボヌクレアーゼ混合溶液、デオキシリボヌクレアーゼ 他	.....29
デオキシリボヌクレイン酸溶液、(株)ニッポンジーン カスタム CapSite™ Hunting	.....30
ラボシート™、(株)ニッポンジーン カスタムノーザンブロットングメンブレン	.....31
サイトカラシン、オカダ酸アンモニウム 他	.....32
SOD 活性検出キット	.....33
ラットケモカイン ELISA キット	.....34
アクチビン A, AB, B 他	.....35
アポトーシススクリーニングキットワコー	.....36

# ゲーリュサック (1778.12.6 ~ 1850.5.9)

科学史家 島尾 永康

## エコール・ポリテクニク

ジョーセフ・ルイ・ゲーリュサックはリモージュ地方のサン・レオナルドで生まれた。祖父は医師、父は始めは検事、のちに判事となったが、革命が起こると貴族寄りとして逮捕され、釈放後は不遇となり、一家は困窮した。16歳のときパリに出て進学の準備をした。父は法律を学ぶことを期待したが、ゲーリュサックは革命期に新設された科学のエリート校、エコール・ポリテクニクに合格し、1797年12月に入学した。この学校は文民と軍人の技術者の養成を目的としていた。革命前の旧制度の学校では身分や家柄によって学生を入学させたのに対して、エコール・ポリテクニクは全国的な選抜試験をおこない、能力によって学生を取った最初の学校である。授業料は不要で、逆に政府から月45フラン支給されたから、親に負担をかけずにすんだ。革命政府は徴兵制を敷いており、ゲーリュサックはこれを苦にしていたが、エコール・ポリテクニクの学生は徴兵を免除された。卒業後は将校として軍務に入る者が多かったが、ゲーリュサックは1800年末に卒業し、最優秀の学生が進むルートとなっていたエコール・デ・ポンゼ・ショウゼ(橋梁土木学校)に進んだ。これは1747年創立の旧制度の名門校で、土木技師は立派な職業と見なされていた。革命後はエコール・ポリテクニクの卒業生だけが入学できた。月給75フランを支給され、未来の技術官僚の地位が約束されていた。

## 有力科学者ベルトレの引き立てによる早い栄達

1800年、ナポレオンとともにエジプト遠征から帰還した化学者ベルトレは、エコール・ポリテクニクの学生を助手



図1. ゲーリュサック

にしたいと希望してゲーリュサックを推薦された。ちょっとしたリサーチをやらせたところ、ベルトレの予想と正対の結果を出してきたので戸惑ったが、若いゲーリュサックの率直さが気に入り、これからは私が科学で君の父親になるう、君はきっと私の自慢の息子になるだろうといった。このときベルトレは52歳、ゲーリュサックは22歳、ベルトレには20歳の息子アメデーがあり、エコール・ポリテクニクの学生だったが、すでに中退して化学工業に従事していたが、純粋化学にも未練を残していた。かれには偉大な父親をもった息子の悲哀がある。30歳のとき一酸化炭素で自殺した。時間と朦朧状態の進行を刻々に記録しながら、ゲーリュサックはエコール・ポリテクニクの最終学年に、ベルトレの指導で塩素による亜麻の漂白というリサーチをおこなった。

ベルトレはナポレオンが砲兵将校だったころからの友人で、ナポレオンが権力を掌握すると、元老院を設置してベルトレをその議員に任命した(図2)。閑職でしかも給料は莫大だった。1801年、ベルトレはその富でパリ南の方数キロのアルクイユに邸宅を買い、化



図2. ベルトレ

学と物理の実験室や図書室を設け、私的な研究施設とした。ゲーリュサックはここでベルトレの指導の許で研究した。少し遅れて物理学者ラプラスも近くに邸宅を買い、弟子のピオと研究した。1807年にはベルトレとラプラスの許に9人の若者が集まり、アルクイユ協会を結成し、研究紀要を発行するようになった。ゲーリュサック、ピオ、探検家アレキサンダー・フンボルト、化学者テナル、ベルトレの息子、植物学者ド・カンドル、物理学者アラゴ、マリユス、化学者デュロンである。それは私的な排他的なエリート・クラブであった。エコール・ポリテクニクは教育機関にすぎず、研究はできなかったから、アルクイユ協会が今日の大学院のような、またはポスト・ドクトラルのリサーチ・スクールとなった。二人の大御所は若者たちに研究の便宜を与え、パリの高等教育機関や学士院に空席の地位ができると、ただちに弟子たちを推薦した。

ゲーリュサックが28歳の若さで学士院会員となれたのは、ベルトレの強力な推薦があったからこそである(図3)。また学士院会員になったからこそ31歳でナポレオンが創設したパリ理

科大学の教授にもなれたのである。学士院では化学の空席がなかったので、ゲーリュサックは物理学のポストについた。気体の熱膨張や、地磁気の測定の実績があるので物理学で通ったのである。ナポレオンが帝位にあった時期(1804～14)、ベルトレは栄え、アルクイユ協会も栄えたが、ナポレオンの没落とともにベルトレも引退し、協会も消滅した。しかしそのころにはゲーリュサックが指導的科学家になっていた(図1)。そしてこの小さなグループから、ゲーリュサック、テナール、アラゴ、シャプタル、ポアソン、デュロンと次々に1820年代の科学アカデミーの会長が出たのである。

### 科学の業績

ゲーリュサックの最初の研究は、24歳のときの気体の熱膨張に関する研究で、0、定圧のすべての気体は、1の温度上昇に対して一定の比で膨張するというものである。この値を0.00375とした(現在の値は0.00366)。他に何もしなくても、これだけで科学史に名前が残ったであろう。これは同時に発表されたイギリスのドールトンの研究や、15年前のJ.A.C.シャルルの未発表の研究より、はるかに精密で優れた研究だったが、ゲーリュサック

はシャルルに言及しているのも、普通、シャルルの法則、またはシャルル・ゲーリュサックの法則といわれている。

次にゲーリュサックが26歳で挑んだのは、熱気球による高度の上空の研究という危険な科学的探検である。高度が上がるにつれて地磁気の強さと空気の成分に変化があるかどうかを調べるためであった。1804年8月24日、ピオとともに高度4000メートルまで飛び、地磁気の強さには変化はないことを確認した(図4)。二人は気温、圧力、湿度を読むのに忙しく、もう一つの目的である空気の採集ができなかった。そこで二回目の飛昇をすることになり、今度はゲーリュサックが独りで乗り込み、気球を軽くして、より高度を目指した(図5)。1804年9月16日に海拔7016メートルに達した。この記録はゲーリュサックが死去した1850年まで破られなかった。真空にしておいたフラスコを二個用意して、6000メートルを越えたとき開いた。後にテナールと分析した結果、高所の空気もパリの空気と成分には変わりはないことが分かった。生理学的観察もおこなった。自分の脈拍と呼吸を記録したのである。着陸地はルーアンの北方だった。上昇するにつれて気温が下がり、滞空6時間でほとんど凍死の寸前だった。現在の人工衛星での科学研究以上に危険

だったかも知れない。この一週間後、ゲーリュサックは職歴の第一歩として、エコール・ポリテクニクのレベティツール(復習教師)に任命された。

ゲーリュサックには150篇の単独論文と約30篇の共著論文がある。科学研究の生産性のピークは31歳と37歳のときである。気体反応の法則(1808)、化学的方法によるカリウムの量産(1808)、ホウ素の遊離(1808)、液体の蒸気密度の測定法(1811)、沃素(1814)、シアン基(1815)、銀の容量分析法(1832)など研究は多岐にわたる。容量分析法はフランスの科学といわれるほど、大きくそれを発展させた。「滴定する」、「ピペット」、「ビュレット」の用語はゲーリュサックに始まる。

ゲーリュサックの最大の弟子はドイツから留学に来たリービヒである。ゲーリュサックは一種のリサーチ・スクールというべきアルクイユ・グループで育ったにもかかわらず、ついにリサーチ・スクールを創始しなかった。それをおこなったのはリービヒである。注目に値するのは、ゲーリュサックが、ブドウ農家はブドウを生産するばかりで土地には何も返さないと、後年のリービヒが強調した農業的サイクルの重要性に言及していることである。

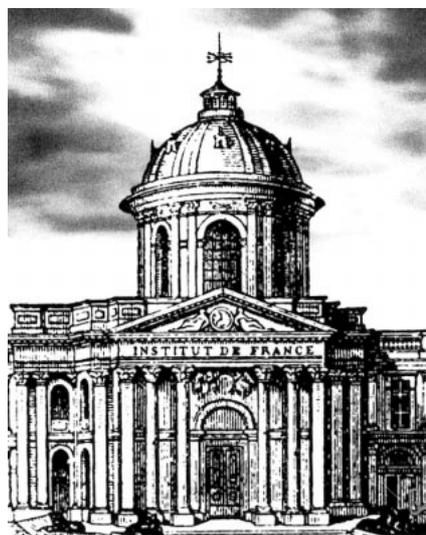


図3. フランス学士院



図4. 気球による飛昇(ピオとともに)。ゲーリュサック(左)がガラスのフラスコをもっているのは、ゲーリュサックといえば気体の研究で有名だったからである。ピオ(右)は温度計と気圧計を組み合わせたものをもっている。肝心の磁気測定装置と電池は図示されていない。



図5. ゲーリュサック単独の第二回目の飛昇。

## 教授の地位と講義

1808年、ゲーリュサックはナポレオンが設立したフランス大学の一環であるパリ理科大学の教授に任命された。大学は講義をおこない、試験を実施し、バカロレア、学士、博士の資格を授与する機関で、研究機能はなかった。一流の科学者を教授に揃えていたが、かれらは研究はよそでおこなった。1818年のゲーリュサックの物理学の講義の受講者は700人だったという。この数字にはいくらか誇張があるともいわれるが、十九世紀の十年代のパリには、一人の教授の講義にこれだけの受講者があったことに驚かされる。半円形階段講堂の席は300人程度だったというから、超満員だったであろう。テナールの化学の講義にも550人ほどの受講者がいた。受講者は、資格試験を目指す者、それほど熱心ではないが科学知識を求める貴族や上層中産階級の子弟、そして外国人学生である。これだけの受講者があったのだから、ゲーリュサックが有名になったのはこの大学の教授としてであるというも納得できる。

1810年、ゲーリュサックはエコール・ポリテクニクの化学教授にも任命された。フランスでは有給の地位を兼任することができ、収入も加算された。これによってポリテクニクの研究設備を利用できるようになった。ポリテクニクは選り抜きの学生だったから、大学より程度の高い講義ができた。1813年にイギリスのデーヴィとファラデーがゲーリュサックを訪問して、その講義を聴いている。ファラデーの日記によると、受講者は約200人だったという。ゲーリュサックは30年間この地位にあり、1840年に辞めている。まだ62歳だったが、すでに同僚からかなり批判が出ていたのである。ゲーリュサックはベルトレの影響もあり、原子論には懐疑的で、新しい原子記号も使わず、原子量や化学当量の使用にも消極的で、もはや科学研究の最前線にいると

はいえなかった。事実このころの関心はもっぱら応用科学に向けられていた。学士院では物理学のポストだったが、カロリック(熱物質論)に固執し、光学や電気への関心がなかったことも立派な地位のある物理学者としては異例であった。

1832年、自然史博物館の化学教授が死んで空席となったとき、ゲーリュサックは理科大学教授を辞任するという条件で、その後任に立候補して選出された。自然史博物館は旧制度の科学機関で革命を生き残った唯一のもので、もと王立植物園といわれ、歴史は古く、その教授職は由緒ある地位だった。政府の管轄下にあった理科大学と比べて、博物館にはより多くの学問的自由があり、試験もなかった。住宅も付設されていた。毎週、三日、伝統に従って午前7.30～9.00という早い時間に講義した。

## コンサルタントと収入

ゲーリュサックは革命によって家計が逼迫した中産階級の出身である。かれが生涯を通じて金銭につよい関心をもったのはこのためである。フランスでは科学の職業化が早く進み、科学の有給のポストが多かった。しかもそれはパリに集中していた。その有給のポストは兼任でき、給料を累積できるのがフランスの特色だった。早く栄達したゲーリュサックは栄職を次々に兼任して、収入を累積させるに巧みであった。1804年にエコール・ポリテクニクのレベティウール(1500フラン)から出発し、学士院会員として1500フラン、パリ理科大学教授として1500フラン、エコール・ポリテクニクでは教授に昇進して6000フラン、これに技術・製造協議局の委員としての2400フランを加えると、1810年(32歳)で早くも計11400フランの収入となった。1832年に、理科大学教授(1500フラン)から自然史博物館教授(5000フランで住宅付き)に移ったのも鮮やかと

いうほかない。

中年からは政府機関と企業のコンサルタントの仕事を手広く引き受けた。1818年、政府の火薬と硝石の諮問委員(4000フラン)、1829年、造幣局の硬貨分析部部長(20000フラン)となり、銀の含有量の分析を灰吹法から塩化銀の沈殿法に変える改革をおこなった。1832年、十七世紀創業の板ガラス工場に始まる大化学会社、サン・ゴバン社に監査役(5000フラン)として経営に参加した。この会社の硫酸製造にかかわって、1830年代の後半に有名なゲーリュサック塔を考案し、1842年に使用し始め、特許を取った。これによって硫酸製造の原料の硝酸カリウムまたは硝酸ナトリウムの2/3を節約できるとした。サン・ゴバン社の重役を経て、1843年、社長に就任、1847年以降は上級コンサルタント(6000フラン)となった。1843年、タバコ実習学校教授(3000フラン)、1840年にポリテクニクを辞任した時点で、計50400フランの収入があったと推定される。教職は博物館教授だけだったから、収入のほとんどはコンサルタントとしてである。五人の子持ちという大家族であり、家計を掌握していた夫人の圧力もあったようだが、企業へのこれほどの入れ込みは当時のフランスの化学者としても異例である。現にポリテクニク教授のデュロンは給料を研究に使って家計を圧迫したし、ローランの死後、その妻子は極貧状態に陥った。

1835年、ゲーリュサックはフランス下院議員としてエコール・ポリテクニクの教育の改革を求めて議会で発言し、「フランスにはもはや厳密な意味でのポリテクニクは存在しない。それは科学者や技術者を養成しないで、もっぱら行政官僚を養成している」と述べ、有能な若者が、科学者や教師にならないで給料の良い政府の行政官僚に吸い取られていくのを嘆いたが、そのゲーリュサック自身も、純粋科学よりはるかに収入の多い応用科学に移っていたのである。



## 医薬品メーカーのクリーンルームに 滅菌済二重包装 除菌剤・潤滑剤



すべての製品は0.2μm フィルターで無菌ろ過されているため、さらなるろ過が必要ありません。  
無菌充てん・二重袋包装・線照射滅菌されているため、クリーンルームへの持ち込みが安全です。  
USP 規格に基づいて無菌試験されており、ロットごとに無菌保証書がついています。  
クラス 100 のクリーンルームで使用できるように製造されています。

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)	コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
525-39091	DECAH-SP-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 11oz ミスト S,	24本	76,500	525-39471	DCY-01	DECON-CYCLE 殺菌洗浄剤(低 pH), 1Gal. C, N	4本	46,500
528-39101	DECAH-ST-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 11oz ストリーム S,	24本	76,500	522-39481	DCY-02	DECON-CYCLE 殺菌洗浄剤(低 pH), 1Gal. C, A	4本	71,400
525-39111	DECAH-SP-91	DECON-AHOL 91% イソプロピルアルコール USP, 11oz ミスト S,	24本	76,500	528-39483	DCY-03-2Z	DECON-CYCLE 殺菌洗浄剤(低 pH), 2oz B, A	24本	40,800
522-39121	DECAH-ST-91	DECON-AHOL 91% イソプロピルアルコール USP, 11oz ストリーム S,	24本	76,500	529-39491	PA-01	PHENE-AHOL 70% エタノール/フェニール混合溶液, 11oz ミスト S, N	24本	68,100
529-39131	DECB-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 1Gal. C,	4本	75,900	522-39501	PA-02	PHENE-AHOL 70% エタノール/フェニール混合溶液, 11oz ミスト S,	24本	86,700
525-39133	DECB-5G-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 5Gal. C,	1本	62,700	529-39511	DC-01	DECON-Clean 消毒薬除去剤, 1Gal. C, N	4本	36,600
526-39141	DECB-91	DECON-AHOL 91% イソプロピルアルコール USP, 1Gal. C,	4本	75,900	526-39521	DC-02	DECON-Clean 消毒薬除去剤, 1Gal. C, A	4本	42,900
523-39151	DECB-A-99	DECON-AHOL 99% イソプロピルアルコール USP, 1Gal. C, A	4本	69,600	522-39523	DC-03-4Z	DECON-Clean 消毒薬除去剤, 4oz B, A	24本	40,800
520-39161	DEC-TR-01	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz トリガー-S, N	12本	33,000	523-39531	DQ100-01	DECON-QUAT 100 10% アンモニア水, 1Gal. C, N	4本	61,200
527-39171	DEC-TR-02	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz トリガー-S, A	12本	45,600	520-39541	DQ100-02	DECON-QUAT 100 10% アンモニア水, 1Gal. C, A	4本	69,600
524-39181	DEC-TR-03	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz トリガー-S,	12本	51,900	526-39543	DQ100-03-8Z	DECON-QUAT 100 10% アンモニア水, 8oz B, A	24本	61,200
521-39191	DEC-TR-04	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz トリガー-S, 噴霧器付	12本	54,000	527-39551	SHC-01-5.25	HYPO-CHLOR 5.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 1Gal. C, N	4本	61,200
524-39201	DECSQ-8Z	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz スクイズ B,	24本	53,400	528-39581	SHC-02-5.25	HYPO-CHLOR 5.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 1Gal. C, A	4本	69,600
520-39203	DECSQ-16Z	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール USP, 16oz スクイズ B,	12本	53,400	524-39583	SHC-8Z-5.25	HYPO-CHLOR 5.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 8oz トリガー-S, A	24本	61,200
521-39211	DECWFI-SP-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール / 注射用水 USP 溶液, 11oz ミスト S,	24本	79,800	522-39584	SHC-13Z-5.25	HYPO-CHLOR 5.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 13oz トリガー-S, A	12本	54,000
528-39221	DECWFI-B-70	DECON-AHOL 70% イソプロピルアルコール / 注射用水 USP 溶液, 1Gal. C,	4本	75,900	525-39591	SHC-02-0.52	HYPO-CHLOR 0.52% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 1Gal. C, A	4本	69,600
539-81701	DSTER-SP-70	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 11oz ミスト S,	24本	76,500	521-39593	SHC-8Z-0.52	HYPO-CHLOR 0.52% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 8oz トリガー-S, A	24本	61,200
525-39231	DSTER-A-70	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 1Gal. C, A	4本	69,600	528-39601	SHC-02-0.25	HYPO-CHLOR 0.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 1Gal. C, A	4本	69,600
521-39233	DSTER-5G-70	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 5Gal. C, A	1本	62,700	524-39603	SHC-8Z-0.25	HYPO-CHLOR 0.25% 次亜塩素酸ナトリウム溶液, 8oz トリガー-S, A	24本	61,200
522-39241	DSTER-B-70	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 1Gal. C,	4本	75,900	525-39611	SPER-01-3%	STERI-PEROX 3% 過酸化水素水, 1Gal. C, N	4本	61,200
529-39251	DSTER-TR-01	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 16oz トリガー-S, N	12本	33,000	522-39621	SPER-01-6%	STERI-PEROX 6% 過酸化水素水, 1Gal. C, N	4本	61,200
526-39261	DSTER-TR-02	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 16oz トリガー-S, A	12本	45,600	529-39631	SPER-02-3%	STERI-PEROX 3% 過酸化水素水, 1Gal. C, A	4本	69,600
523-39271	DSTER-TR-03	STER-AHOL 70% 変性エタノール, 16oz トリガー-S,	12本	54,000	525-39633	SPER-8Z-3%	STERI-PEROX 3% 過酸化水素水, 8oz トリガー-S, A	24本	61,200
520-39281	VEL6-6X6	ALCOH-WIPE 6" X 6" フラットワイプ, N	100枚	42,600	526-39641	SPER-02-6%	STERI-PEROX 6% 過酸化水素水, 1Gal. C, A	4本	69,600
527-39291	VEL6-6X6-S	ALCOH-WIPE 6" X 6" フラットワイプ,	100枚	47,700	522-39643	SPER-8Z-6%	STERI-PEROX 6% 過酸化水素水, 8oz トリガー-S, A	24本	61,200
520-39301	VEL6-12X12	ALCOH-WIPE 12" X 12" フラットワイプ, N	100枚	50,100	523-39651	DS100-02	DECON-SPORE 100 過酸化水素 / 過酢酸 / 酢酸混合溶液(低濃度), 1Gal. C, A	4本	36,000
527-39311	VEL6-12X12-S	ALCOH-WIPE 12" X 12" フラットワイプ,	100枚	57,900	529-39653	DS100-03-32Z	DECON-SPORE 100 過酸化水素 / 過酢酸 / 酢酸混合溶液(低濃度), 32oz B, A	4本	17,100
524-39321	VEL6-18X18	ALCOH-WIPE 18" X 18" フラットワイプ, N	100枚	62,700	520-39661	DS200-02	DECON-SPOER 200 過酸化水素 / 過酢酸 / 酢酸混合溶液(高濃度), 1Gal. C, A	4本	123,000
521-39331	VEL6-18X18-S	ALCOH-WIPE 18" X 18" フラットワイプ,	100枚	67,800	526-39663	DS200-03-32Z	DECON-SPOER 200 過酸化水素 / 過酢酸 / 酢酸混合溶液(高濃度), 32oz B, A	4本	42,000
528-39341	AG-02-70	ALCOH-GLOVE 手袋型ワイプ, N	100枚	57,900	527-39671	STWA-01	STERI-WATER 純水 USP, 1Gal. C, N	4本	61,200
525-39351	AG-04-70	ALCOH-GLOVE 手袋型ワイプ,	100枚	62,700	524-39681	STWA-02	STERI-WATER 純水 USP, 1Gal. C,	4本	69,600
522-39361	DEC-50	ALCOHOL ディスペンサー(ハンドフリー式)	1個	105,000	520-39683	STWA-5G	STERI-WATER 純水 USP, 5Gal. C,	1本	61,200
529-39371	DEC-100	ALCOHOL ディスペンサー(ハンドフリー フットペダル式)	1個	140,700	528-39684	STWA-8Z	STERI-WATER 純水 USP, 8oz. トリガー-S,	24本	61,200
526-39381	200-P	ALCOHOL ディスペンサー(1 Gallon ポンプ S 用),	4個	3,000	521-39691	SO-01	STERI-OIL 潤滑油, 8oz. エアゾール S, N	24本	87,300
523-39391	300-T	ALCOHOL ディスペンサー(1 Gallon トリガー-S 用),	4個	3,000	524-39701	SO-02	STERI-OIL 潤滑油, 8oz. エアゾール S,	24本	102,000
526-39401	DH-02	DECON-HAND ハンド消毒剤インスタント, 4oz. S, N	24本	23,100	521-39711	SDG-01	STERI-DEGREASE 脱脂洗浄用 8oz. エアゾール S, N	24本	87,300
522-39403	DH-04	DECON-HAND ハンド消毒剤インスタント, 16oz. S, N	12本	27,600	528-39721	SDG-02	STERI-DEGREASE 脱脂洗浄用 8oz. エアゾール S,	24本	102,000
523-39411	DH-05	DECON-HAND ハンド消毒剤インスタント, 4oz. S,	12本	29,100	525-39731	SG-01	STERI-GREASE 油差し用 8oz. エアゾール S, N	24本	87,300
529-39413	DH-06	DECON-HAND ハンド消毒剤インスタント, 16oz. S,	12本	33,600	522-39741	SG-02	STERI-GREASE 油差し用 8oz. エアゾール S,	24本	102,000
520-39421	DH-100	DECON-HAND 壁掛式ディスペンサー(ハンド消毒剤用)	1個	52,500	529-39751	SSL-01	STERI-SILICON シリコーン潤滑剤, 8oz. エアゾール S, N	24本	87,300
527-39431	DP-01	DECON-PHENE 殺菌洗浄剤(低濃度), 1Gal. C, N	4本	46,500	526-39761	SSL-02	STERI-SILICON シリコーン潤滑剤, 8oz. エアゾール S,	24本	102,000
524-39441	DP-02	DECON-PHENE 殺菌洗浄剤(低濃度), 1Gal. C, A	4本	63,000	527-39791	SB-01	STEEL-BRIGHT ステンレス鋼洗浄用 8oz. エアゾール S, N	24本	87,300
520-39443	DP-03-4Z	DECON-PHENE 殺菌洗浄剤(低濃度), 4oz. B, A	24本	40,800	523-39793	SB-02	STEEL-BRIGHT ステンレス鋼洗浄用 8oz. エアゾール S,	24本	102,000
521-39451	DPH-01	DECON-PHASE 殺菌洗浄剤(高濃度), 1Gal. C, N	4本	46,500	520-39801	SB-03	STEEL-BRIGHT ステンレス鋼洗浄用 11oz. エアゾール S,	24本	114,000
528-39461	DPH-02	DECON-PHASE 殺菌洗浄剤(高濃度), 1Gal. C, A	4本	71,400	527-39811	SBW-12X12-S	STEEL-BRIGHT ステンレス鋼洗浄用 12" X 12" ワイプ,	100枚	57,900
524-39463	DPH-03-2Z	DECON-PHASE 殺菌洗浄剤(高濃度), 2oz. B, A	24本	40,800	524-39821	DG-03-16Z	DECON-GLASS ガラス洗浄剤, 16oz. トリガー-S,	12本	51,900

: 無菌充てん + 二重包装 + 線照射, A: 無菌充てん + 二重包装, N: 非滅菌, S: スプレー, C: コンテナ, B: ボトル

# プロテインチロシンホスファターゼの活性測定法

北海道大学 歯学部 歯科薬理学講座 西方 眞

細胞内情報伝達の主要なメカニズムの一つであるタンパク質のチロシンリン酸化レベルの調節は、リン酸化を触媒する酵素であるプロテインチロシンキナーゼと脱リン酸化を触媒する酵素であるプロテインチロシンホスファターゼ(以下 PTP と略)との拮抗的な作用によって行われている。本稿では、そのうち PTP の活性測定法について、はじめに従来の方法を概説し次に筆者らが最近開発した方法を紹介したい。

## 従来の活性測定法の概説

PTP の活性測定に使用される基質は、いままでもなくリン酸化チロシン残基を含むタンパク質やペプチドである。そして、その脱リン酸化を測定するわけであるが、すでに報告されている方法は (a) 基質から遊離したリン酸イオンを直接定量するものと、(b) 脱リン酸化にともなって生じる基質の物理化学的性質の変化を利用するものと大きく分けられる。(a) としては、遊離したリン酸イオンをマラカイトグリーン-リンモリブデン酸複合体として比色する方法(比色法)<sup>1)</sup>と、放射性的リンで標識した基質から遊離した放射能を測定する方法(アイソトープ法)<sup>2)</sup>が一般的である。(b) としては、脱リン酸化によって増加する基質の吸光度や蛍光強度を測定する方法(差スペクトル法)<sup>3)</sup>や脱リン酸化すると溶出位置が変化することを利用した高速液体クロマトグラフィーによる定量法(HPLC 法)<sup>4)</sup>などがあげられる。比色法は操作は簡便であるが、感度はそれほど高くなく(検出限界は 1 ナノモル程度)、試料や緩衝液中のリン酸イオンが測定を妨害する。差スペクトル法は操作が非常に簡便であるだけでなく、脱リン酸化反応を連続的に追跡することができ

るという優れた特徴を有する。そのため、速度論的研究にはすこぶる有利である。吸光度を測定する場合の感度は低い(検出限界は数ナノモル)が、蛍光を測定するならばさらに感度を上げることができる(検出限界は数 10 ピコモル)。ところが、この方法では吸光度測定も蛍光測定も共に 280nm 付近の紫外線を照射するため、精製度の低い酵素標品を用いたり安定化剤として緩衝液中に BSA などのタンパク質を加えたりすると、バックグラウンド値が上がり測定を妨害する。HPLC 法の感度は高い。Fmoc 基を結合させた基質を使用する場合、蛍光検出を行うと数 10 フェムトモルの脱リン酸化体を検出できるという。しかし、この方法では反応物をいちいち HPLC によって分離しなければならない。アイソトープ法は現在最もよく採用されている方法であろう。読者の中にもこの方法をつかわれている方は大勢おられることと思われる。この方法の長所は、何といたってもアイソトープを使用するため感度が高いということである。比活性が 1000cpm/pmol 程度の基質を用いるとすると、1 ピコモル以下の遊離リン酸イオンを検出できる。活性測定の一連の操作も割と簡便だし、妨害物質もほとんどない。さらに、タンパク質も基質にできることから、特定のタンパク質の脱リン酸化の研究にも有利である。しかし、この方法にも欠点がある。一度でもこの方法を試したことのある方ならおわかりだと思うが、基質の放射能の減衰があまりにも速く、同一ロットの基質を長期間にわたっては使用できないのである。基質の作成も結構面倒である。適当なタンパク質やペプチドを、[<sup>-32</sup>P (または <sup>33</sup>P)]ATP と適当なチロシンキナーゼを用いて酵素的にリン酸化する

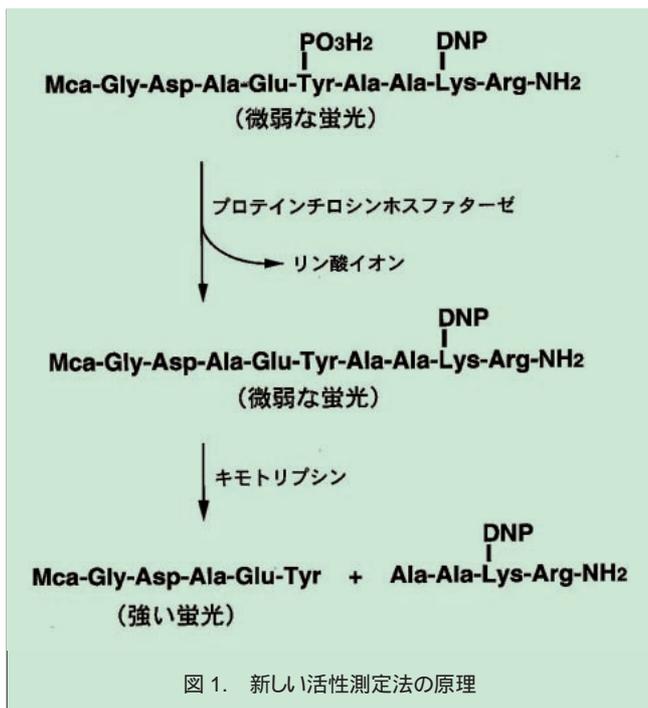
わけだが、この反応が化学量論的に進まないことが普通である。不均一な基質のまま使用しても構わない場合もあるが、それでは不都合な場合はクロマトグラフィーなどで均一な分子種を分離しなければならない。

筆者の所属する研究室では、従来より骨形成に關与する細胞が産生する PTP の研究を行ってきた。PTP の活性測定には感度のよいアイソトープ法を採用してきたが、上に述べたような欠点について常々不満を抱いていた。最近筆者らは、この様な不満を解消すべく全く新しい発想に基づく PTP の活性測定法を開発したので<sup>5)</sup>、以下にその紹介をしたいと思う。

## 新しい活性測定法の原理

この方法はアイソトープを一切用いることなしに、アイソトープ法と同等の感度を得ることができ、しかも実際の操作はアイソトープ法よりも簡便である。さらに、用いる基質は化学合成したものである。均一で長期間安定である。この方法を開発するに当たって最初に合成した基質は Mca-Gly-Asp-Ala-Glu-pTyr-Ala-Ala-Lys(DNP)-Arg-NH<sub>2</sub> である。ご覧のとおりペプチド性の基質である。ここで、Mca は (7-methoxycoumarin-4-yl) acetyl 基、pTyr はリン酸化チロシン残基、そして Lys(DNP) はリジン残基の側鎖のアミノ基に DNP(2,4-dinitrophenyl)基を結合させたものである。なお、この配列は pp60<sup>src</sup> 中の自己リン酸化部位周辺の配列に若干似せてある。

図 1 に、この基質を用いた活性測定法の原理を示してあるので参照していただきたい。基本的には、PTP の作用による脱リン酸化の程度を蛍光強度の変化としてとらえるものである。基質



中の Mca 基は、それ自身蛍光を発する蛍光団であり、DNP 基はその蛍光を共鳴エネルギー移動により抑える働きをする消光団である。したがって、これら二つの基が同一分子内に存在すると、Mca 基本来の蛍光は非常に低く抑えられた状態にある。この状態の基質に PTP を作用させると、リン酸化チロシン残基が脱リン酸化される。しかし、蛍光団と消光団が依然として同一分子内に存在したままであるので、蛍光強度の変化はほとんどみられない。ところが、ここにキモトリプシンを作用させると、新たに生じたチロシン残基の C 末端側でペプチド結合が切断され（キモトリプシンの基質特異性に基づく）、蛍光団と消光団が遠く離れることとなる。その結果、Mca 基本来の蛍光が回復するわけである。キモトリプシンはリン酸基が結合したままの元の基質には作用しないので、脱リン酸化を認識しているといえる。

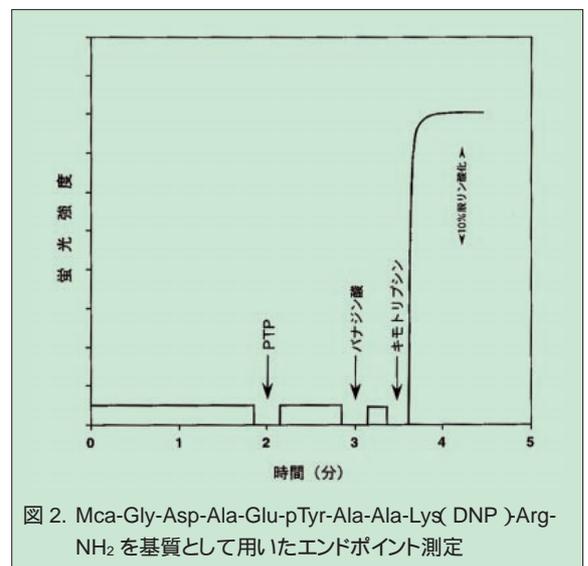
### 新しい活性測定法の実例

基質を用いた活性測定法の実例を具体例によって示そう。日立蛍光分光

光度計 F-3000 の励起波長を 328 nm、蛍光波長を 395nm にセットした。この光度計では、バンド幅は励起側、蛍光側ともに 5nm に自動的にセットされるが、このバンド幅で基質の蛍光強度を測定すると、恐らく紫外線が強すぎるのだと思われるが、値が徐々に上昇していく現象が観察される。これは、励起側のバンド幅を 1.5nm にせばめ、蛍光側のバンド幅を 40nm に広げることによって解決できた。緩衝液は、0.01% BSA を含む 20mM ジメチルグルタレート (pH 6.6) を用いた。Yersinia enterocolitica 由来の PTP (YOP PTP、市販品) を用いた活性測定の実例を図 2 に示す。まず、5 × 5mm の石英製マイクロセルに 1μM の基質溶液 200μl を加えた。これを光度計のセルホルダーにセットして数分間保温した後、2μl の PTP 溶液を加えて混合した(終濃度 1.9 ユニット/ml)。1 分間酵素反応を行わせたあと、10mM のバナジン酸ナトリウム水溶液を 2μl 加えて反応を停止させた。次に、5% のキモトリプシン溶液 (3 回結晶化標品を 1mM 塩酸に溶解したもの) 2μl を加えたところ、蛍光強度が大きく増加した。20 秒ほどでプレートに達し、脱リン酸化された基質がキモトリプシンによって完全に切断されたことがわかる。この蛍光強度の増加分を、レファレンス化合物として合成した

Mca-Gly-Asp-Ala-Glu-Tyr の蛍光強度と比較することによって、脱リン酸化された基質の濃度を求めた。その結果、29% の基質が PTP の作用を受けたことがわかった。PTP の濃度を変化させて同様の実験を行ったところ、脱リン酸化率が 30% までは脱リン酸化速度(蛍光強度の増加分)は PTP 濃度に完全に比例することがわかった。なお、この基質の場合は脱リン酸化率 100% で、基質の蛍光強度は 100 倍強に増加する。上記の活性測定は、PTP の添加からキモトリプシン添加後の蛍光強度測定まで全て単一のセルで行うことができ、非常に簡便である。しかし、クロマト溶出液などの多数のサンプルを測定する場合は、試験管中で一連の反応を行い、最後にまとめて蛍光強度を測定してもよい。ただし、脱リン酸化反応がバナジン酸で完全に停止することが条件である。粗酵素標品を用いるときは PTP 以外のホスファターゼの存在に注意を払う必要がある。

ここで述べた活性測定法は、一定時間後に反応を停止させ、この間に脱リン酸化された基質の量を測定するものである(エンドポイント測定)。しかし、もし基質とキモトリプシンをはじめから混合しておき、そこに PTP を加えれば、基質が脱リン酸化されるそばから



キモトリプシンによって切断を受け、蛍光強度の上昇を連続的にリアルタイムでモニターできる(カイネティック測定)ことが期待できる。もし実際にそうなれば、初速度が正確に測定でき速度論的研究に非常に好都合である。試しに、基質とキモトリプシンを混合した中に PTP を加えたところ、予想通り蛍光強度が時間とともに上昇した。詳しく調べて見ると、この基質の脱リン酸化反応を連続的に追跡するためには、キモトリプシンの終濃度が 0.03% 以上は必要ことがわかった。ところが、このキモトリプシン濃度では PTP の方も加水分解を受けてしまい、活性が急速に失われることもわかった。これは YOP PTP の場合であるが、キモトリプシンに特に抵抗性の高い PTP でなければ、この基質を用いたカイネティック測定は不可能であることがわかった。そこで筆者らは、多くの種類の PTP にカイネティック測定が適用できるようにするために、脱リン酸化後にキモトリプシンによる切断をより受けやすい基質の合成を試みた。アミノ酸配列を変化させて合成した数種類の基質の中で、特にカイネティック測定に適したものの一つを紹介しよう。これは、Mca-Gly-Asp-Gly-Val-pTyr-Ala-Ala-Lys(DNP)-Arg-NH<sub>2</sub> の構造を有するもので、p85<sup>gag-fes</sup> 中の自己リン酸化部位周辺のアミノ酸配列に類似させてある。この基質の特徴は、先の基質とアミノ酸残基の種類が 2 ヶ所だけ異なるだけであるが、脱リン酸化後のキモトリプシンによる切断速度が 10 数倍も大きいことである。そのため、より低い濃度のキモトリプシン存在下で、PTP の失活を抑えながらカイネティック測定を行うことができる。この基質を用いた反応の連続的追跡の結果を図 3 に示す。まず、1 μM の基質溶液 200 μl をマイクロセルに入れ、続いて 0.2% のキモトリプシン溶液 2 μl を加えてキモトリプシン濃度を 0.002% とした。このセルをセルホルダーにセットし、数分

間保温した。図からもわかるように、保温中には蛍光強度の上昇はほとんど見られない。次に、2 μl の YOP PTP を加えたところ(終濃度 0.2 ユニット/ml)、時間とともに蛍光強度の上昇が見られた。はじめの 1 分間は蛍光強度が直線的に上昇し、この部分より初速度を求めることができた。この基質を用いたエンドポイント測定によって得られた速度と比較したところ、0.002% のキモトリプシンは、YOP PTP を少なくとも 1 分間は失活させないことがわかった。他の市販の PTR (T-cell PTP と LAR PTP) や筆者らの骨芽細胞株由来の PTP も、この濃度のキモトリプシンには安定であった。反応を連続的に追跡できるということは、先にも述べたように速度論的研究にまことに好都合であるばかりでなく、小さな蛍光強度の上昇も正確に捉えやすいという利点がある。実際には、0.1 ピコモル程度の脱リン酸化なら十分に検出できる感度を有している。多数の試料を一度に測定したい場合は、試験管内でエンドポイント測定をすればよい。この場合、基質溶液に試料を加えて一定時間後にバナジン酸で反応を停止させ、キモトリプシンを添加してもよいし、あらかじめ基質とキモトリプシンを含んだ溶液に試料を加え、一定時間後にバナジン酸で反応を停止させてもよい。PTP 以外のホスファターゼが混在している試料の場合は、バナジン酸では完全に反応を停止できないことがある。そのような懸念のある時は後者の方法を用いて、バナジン酸のかわりにキモトリプシンの阻害剤(例えばキモスタチン)を加えて反応を停止させた方がよい。

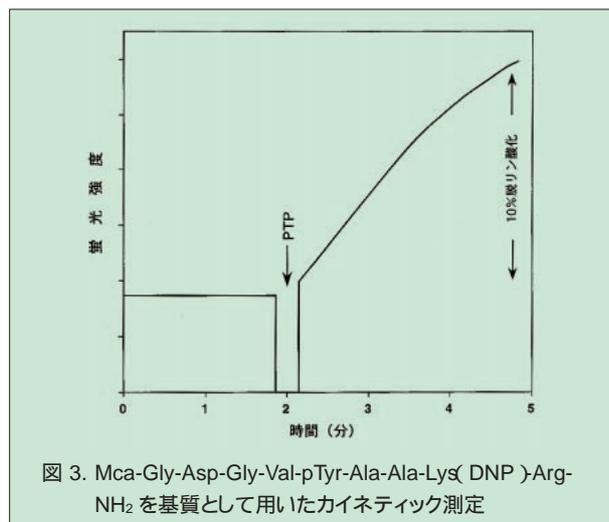


図 3. Mca-Gly-Asp-Gly-Val-pTyr-Ala-Ala-Lys(DNP)-Arg-NH<sub>2</sub> を基質として用いたカイネティック測定

## おわりに

筆者らは、従来の PTP の活性測定法の欠点を排除すべく新しい活性測定法を開発した。性能については、従来の方法に比べ優れたものであると自負している。しかし、キモトリプシンに非常に弱い PTP には、カイネティック測定が困難であるなどの弱点も有している。他にもまだまだ多くの欠点があるかもしれない。今後多くの研究者の方々に本法を試していただき、不都合な点を指摘していただければ幸いである。改良に役立てたいと思う。

## 〔参考文献〕

- 1) Hess, H. H. and Derr, J. E. (1975) Anal. Biochem. 63, 607-613.
- 2) Lau, K.-H. W., Farley, J. R. and Baylink, D. J. (1989) Biochem. J. 257, 23-36.
- 3) Zhang, Z.-Y., Maclean, D., Thieme-Sefler, A. M., Roeske, R. W. and Dixon, J. E. (1993) Anal. Biochem. 211, 7-15. Nash, K., Feldmuller, M., de Jersey, J., Alewood, P. and Hamilton, S. (1993) Anal. Biochem. 213, 303-309.
- 4) Zhao, Z., Zander, N. F. and Malencik, D. A. (1992) Anal. Biochem. 202, 361-366. Madden, J. A., Bird, M. I., Man, Y., Raven, T. and Myles, D. D. (1991) Anal. Biochem. 199, 210-215.
- 5) Nishikata, M., Suzuki, K., Yoshimura, Y., Deyama, Y. and Matsumoto, A. (1999) Biochem. J. 343, 385-391.

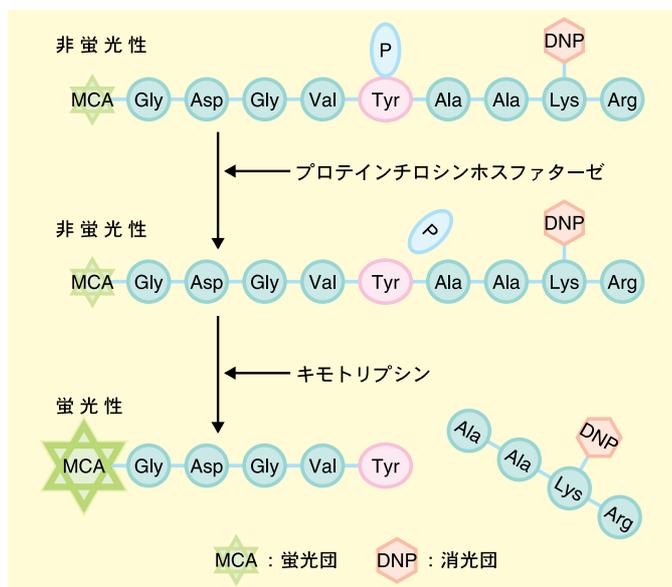
## 消光蛍光法を用いた PTP 活性アッセイキット Fluorospark™ PTP Assay Kit

タンパク質のリン酸化反応は、細胞機能の制御機構として細胞増殖、免疫応答、がん化など様々な生命現象で重要な働きを担っています。特に、リン酸化チロシンを特異的に脱リン酸化するプロテインチロシンホスファターゼ (PTP) は、情報伝達系で重要な調節的役割を果たしています。最近では、ホスファターゼ阻害剤の医薬品化が進展しており、例えば新規な阻害剤の開発にもホスファターゼの活性測定は益々有用となっています。

本キットは、消光された蛍光性リン酸化ペプチドを基質として、RI 法に匹敵する感度で簡単に PTP 活性を測定することができます。マイクロプレートへの適用が可能ですので、多検体処理に非常に有用です。

### 反応原理

非蛍光性のリン酸化ペプチドを基質として、ホスファターゼで脱リン酸化した後、キモトリプシン消化により生じた蛍光性ペプチドを測定します。



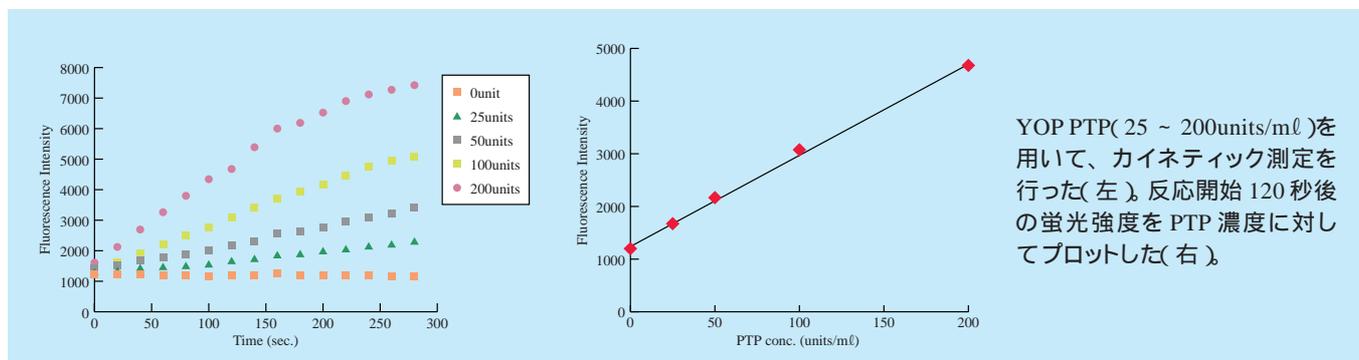
### 測定方法

#### カイネティック測定

◀	反応溶液	196 $\mu$ l/well	
	Substrate Solution	1 $\mu$ l	
	Reaction Buffer	10 $\mu$ l	
	水	185 $\mu$ l	
25、2分	◀	Chymotrypsin Solution	2 $\mu$ l/well
	◀	サンプル	2 $\mu$ l/well
蛍光測定 (Ex:328nm, Em:395nm)			

#### エンドポイント測定

◀	反応溶液	198 $\mu$ l/well	
	Substrate Solution	1 $\mu$ l	
	Reaction Buffer	10 $\mu$ l	
	水	187 $\mu$ l	
25、2分	◀	サンプル	2 $\mu$ l/well
	◀	Stop Solution	2 $\mu$ l/well
25、1分	◀	Chymotrypsin Solution	2 $\mu$ l/well
蛍光測定 (Ex:328nm, Em:395nm)			



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
299-55601	Fluorospark™ PTP Assay Kit	PTP 測定用	100 回用	30,000
コード No.	メーカーコード	品名	内容	特長
534-52061	F129.003	スペクトラフルオ	1 台	蛍光/吸光マルチプレートリーダー
536-67031	F129.005	スペクトラフルオプラス	1 台	蛍光/発光/吸光マルチプレートリーダー

### 関連商品

励起吸光用及び蛍光用フィルターにつきましては、ご照会下さい。

# 生体成分試料のダイオキシン分析

摂南大学 薬学部 中尾 晃幸、宮田 秀明

## 1. はじめに

ダイオキシン類はいずれも強毒性であり、現在の環境レベルの汚染で人体に生殖障害や免疫抑制などの影響を及ぼす可能性があるために、世界諸国で汚染軽減対策が進められている塩素系環境汚染物質である。ダイオキシン〔ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン(PCDD)〕は、75種類の構造異性体が存在するが、毒性の強い2,3,7,8-塩素置換体の7異性体を対象として毒性評価が行われる(図1、表1)。ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)はPCDDと類似した物理化学的性質や生体作用を有し、135種類の構造異性体が存在するが、生体作用の強い10種類の2,3,7,8-塩素置換体が毒性評価対象となる(図1、表1)。

一方、ポリ塩化ビフェニル(PCB)も209種類の構造異性体が存在するが、共扁平構造を持つ13種類のコプラナー PCB(Co-PCB)異性体は毒性が

強く、その生体作用はPCDDと類似する。Co-PCBはPCB製品中に存在し、廃棄物の焼却過程で生成することから、PCDD、PCDFとともに広範囲に環境汚染を引き起こしている。従って、これらの三化合物はダイオキシン類として総称され、総合的に毒性評価が行われている。Co-PCBはノンオルト(Non-Co-PCB)、モノオルト(Mono-Co-PCB)およびジオルト(Di-Co-PCB)に大別できる。しかし、1997年8月に、WHOはNon-Co-PCBとMono-Co-PCBのみの12種類の異性体をCo-PCBとする改正案を提案した(表1)。さらに、PCDD、PCDFについてもTEFを若干変更した。今後、わが国でもこの提案が受け入れられていくものと考えられる。

毒性評価対象となっているダイオキシン類異性体はいずれも2,3,7,8-TCDD毒性を1としたときの相対毒性、即ち、2,3,7,8-TCDD毒性等価係数(TEF)が定められている(表1)。各異

性体の実測濃度にTEFを乗じた値の総和を2,3,7,8-TCDD毒性等価量(TEQ)とし、これを用いてダイオキシン類の毒性評価が行われる。

上記の背景を基に、本文では生体成分試料(母乳、毛髪、血液など)を中心とした分析法について解説したい。

## 2. ダイオキシン類測定のための溶媒、試薬及び器具について

上記したように2,3,7,8-TCDDは極めて強毒性であり、また、その他のダイオキシン類の各異性体も強い生体作用を示すことから、一般的にpptオーダーの高精度超微量分析が要求される。環境、食品、人体などの試料中には母体マトリックスの他に多種類の汚染物質がダイオキシン類に較べて高濃度で含まれている。そのために、1) 夾雑物をいかに効率よく除去し、2) 精製画分中の各ダイオキシン類異性体をいかに高精度で分析するかが

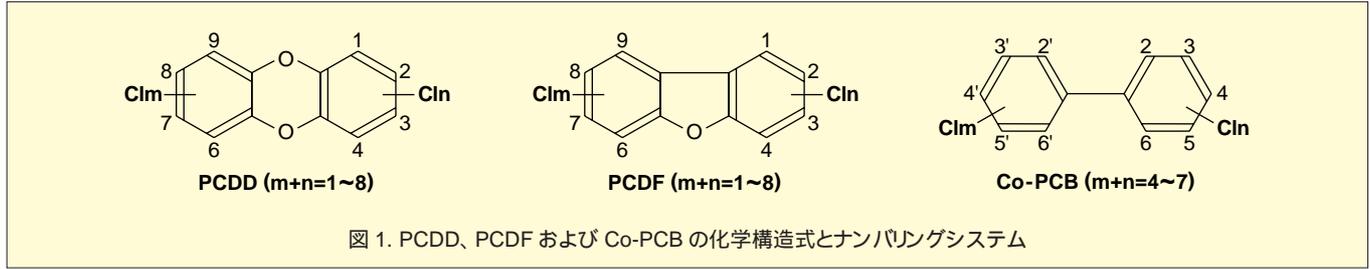


図1. PCDD、PCDF および Co-PCB の化学構造式とナンバリングシステム

表1. 毒性評価対象のダイオキシン類異性体と2,3,7,8-TCDD毒性等価係数(WHO, 1997)

化合物	TEF	化合物	TEF	化合物	TEF
<b>PCDD</b>		2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	3,3',4,4',5'-PeCB	0.1
2,3,7,8-TCDD	1	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	3,3',4,4',5,5'-HxCB	0.01
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	<b>Mono-Co-PCB</b>	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	2,3,3',4,4'-PeCB	0.0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	2,3,4,4',5'-PeCB	0.0005
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	2,3',4,4',5'-PeCB	0.0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	2',3,4,4',5'-PeCB	0.0001
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.0001	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.0001	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.0005
<b>PCDF</b>		<b>Non-Co-PCB</b>		2,3,3',4,4',5'-HxCB	0.0005
2,3,7,8-TCDF	0.1	3,4,4',5'-TCB	0.0001	2,3',4,4',5,5'-HxCB	0.00001
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	3,3',4,4'-TCB	0.0001	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	0.0001

重要となる。特に、現在、毒性評価対象となっている PCDD で 7 種、PCDF で 10 種および Co-PCB で 12 種類を正確に定量することである。

有機塩素系化合物は微量から超微量の分析が要求されるために、分析汚染物質の汚染がない試薬や器具類などを使用することが極めて重要となる。従って、溶媒類は残留農薬分析用、PCB 分析用またはダイオキシン類分析用、あるいはそれらと同等品を、試薬類は特級以上の高品質のものを用いる。また、溶媒や試薬類は分析に先立って、妨害物を含まないことを確認しておく必要がある。水はヘキサン洗浄水を用いる。また、器具は予めアセトンやヘキサンなどの脂溶性溶媒で洗浄し、乾燥したものを使用する。

一方、精製過程で使用するカラムクロマト充填剤や HPLC 用カラムは製造ロットにより分離能や極性が異なるために、事前に標品を使用してチェックする必要がある。一般的に使用されるチェック用の標準品は 1,3,6,8-TCDD、1,3,6,8-TCDF、OCDD、OCDF と Co-PCB 異性体が用いられる。

### 3. 生体試料の採取方法

#### 3-1 母乳

母乳中のダイオキシン類濃度は経産度が大きくなるにつれて減少するので、対象者を限定することが重要である。一般的には、初産者が対象にして分析されることが多い。通常、約一ヶ月以内の母乳を対象として採取し、採取量は約 100ml である。一度に採取が困難な場合には、数日～一週間にわたって採取してもよい。予め溶媒で洗浄した採乳器で採取し、密閉可能なガラス容器に入れた後、目的の採取量になるまでの期間は冷蔵庫または冷凍庫に保存する。

#### 3-2 毛髪

散髪時に採取する。採取量は約 7g 以上が必要である。通常の人では一

回の散髪で 7g の採取が可能であるが、毛髪の少ない人の場合には困難であるため、数回の散髪で得られる毛髪を混合して使用しても良い。毛髪試料は 1% 程度の中性洗剤水で洗浄し、乾燥した後、分析に供するまで冷蔵庫または冷凍庫で保存する。

#### 3-3 血液

血液中の脂肪含量は食事により大きく影響されるために、採血は食後 3 時間以降に行う。血液を約 20ml ずつを 3～5 本の試験管に合計、60～100ml を採取する。血清を使用する場合と全血を使用する場合があり、前者の場合は、約 10° の角度に試験管を傾斜させて凝血するまで放置する。その後、遠心分離し、血清を分取する。血清は分析に供するまで、凍結保存する。一方、後者の場合は、予め血液凝固防止剤を添加した採取管に血液を採取し、分析に供するまで、冷暗所または凍結保存する。採血量が 100ml の場合、50ml (分析用)、10ml (脂肪分析用)、40ml (再分析用) の 3 本に分けて保存するのが望ましい。

## 4. 抽出

すべての試料に対して抽出操作に先立って <sup>13</sup>C-ラベル化ダイオキシン類異性体をクリーンアップスパイクとして添加する。クリーンアップスパイクは回収率補正を目的として添加されるものであり、添加される種類は現在、毒性評価対象異性体の <sup>13</sup>C ラベル化体である。ただし、<sup>13</sup>C-OCDF は添加しない。OCDF の回収率は <sup>13</sup>C-OCDD のものを用いる。

生体試料は直接あるいは抽出脂肪について前処理が行われる。前処理の目的としてはマトリクス中に大量に含まれる分析の妨害物となる脂肪、着色物質などの除去である。一般的にアルカリ分解処理、酸処理、あるいは分子篩カラム精製が前処理法として適用される。アルカリ分解処理は室温下、

0.5～2N の KOH エタノール溶液中で 2 時間程度振とうし、脂肪をケン化する方法である。酸処理はヘキサンに溶解した抽出脂肪に濃硫酸を添加、振とうするか、あるいは生体試料に 1N HCl を直接添加し、振とうして脂肪を沈殿除去する方法である。分子篩カラム処理法は分子篩カラムを用いて高分子量の脂肪・着色成分を溶出除去した後、ダイオキシン類を分取する手法であり、カラム充填剤には Bio-Rad 製 Bio-Beads SX-3 が一般的に用いられる。

#### 4-1 母乳

約 100g の母乳にシュウ酸ナトリウム 1g を加え、溶解後、エタノール 100ml を加え、よく混和する。続いて、エーテル 50ml、石油エーテル 50ml を加え、1 分間激しく振とうする。有機溶媒層を分離し、水層をさらにエーテル・石油エーテル (1:1) 50ml で 2 回抽出する。抽出液は 2% NaCl 溶液 500ml で洗浄後、水で洗浄する。無水硫酸ナトリウムで脱水後、あらかじめ秤量しておいたナス型フラスコに入れてエバポレーターを用いて乾固し、脂肪重量を測定する。得られた脂肪は 0.5N KOH エタノール溶液 (5% 水) で室温下 2 時間ケン化し、ヘキサンで分配抽出を行い、濃縮後、精製用試料とする。

#### 4-2 毛髪

毛髪の前処理法としては細切し、トルエン還流抽出が適用されているが、抽出効率が細切度で大きく左右される欠点がある。一方、約 7g の毛髪試料に対して 2N KOH 水溶液 100ml を添加し、室温下 4 時間振とう処理で毛髪を溶液状にする。続いて、n-ヘキサンで分配抽出を行う。得られた抽出液は水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮後、精製用試料とする。この毛髪試料のアルカリ分解・n-ヘキサン分配抽出は良好な再現性を与えることを確認した<sup>1)</sup>。

#### 4-3 血液

最近、人体汚染の実態把握のため

に血液が最適な試料と考えられている。それは、広範囲な年齢の男女から採取が可能だからである。血液分析については「3. 生体試料の採取方法」の項に記載したように分析用と脂肪分析用の2段階の操作となる。分析用の血液試料 50ml に 2N KOH エタノール溶液(5% 水) 30ml を添加し、攪拌した後一夜放置する。エタノール 10ml、水 20ml、ヘキサン 30ml を添加し、30 分間振とう抽出を行う。ヘキサン層を分画後、水層にヘキサン 30ml を添加し、さらに 30 分間振とう抽出を行う。2 回の抽出によるヘキサン分画を混合する。得られたヘキサン抽出液を水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮し、精製用試料とする。

一方、脂肪分析用の血液試料 10ml にエタノール 3ml、n-ヘキサン 20ml および飽和硫酸アンモニウム 3ml をそれぞれ添加し、30 秒間、6 サイクルの超音波処理を行う。続いて、分液ロートに移し、30 分間の振とう抽出を行う。ヘキサン層を分画後、水層にヘキサン 20ml を添加し、さらに 30 分間振とう抽出を行う。2 回の抽出によるヘキサン分画を混合する。得られたヘキサン抽出液を水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水後、あらかじめ秤量しておいたナス型フラスコに入れてエバポレーターを用いて乾固し、脂肪重量を測定する。

## 5. 精製

各試料の精製法は、主として多層シリカゲルカラム、アルミナカラムおよび活性炭カラムクロマトグラフィーが繁用されている。多層カラムクロマトグラフィーの原理は 1980 年に Lamparski ら<sup>2)</sup> によって考案され、妨害物を効率よく除去できる H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、AgNO<sub>3</sub>、KOH を化学修飾させたシリカゲルに吸着させた後、2 本のカラムに充填して精製する方法である。著者らは処理時間の短縮を計るために一

本化したカラムを使用している。その概略を図 2 に示す。下からシリカゲル、2% KOH シリカゲル、シリカゲル、44% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> シリカゲル、22% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> シリカゲル、シリカゲル、10% AgNO<sub>3</sub> シリカゲル、無水硫酸ナトリウムを積層したカラムクロマト管に抽出試料を添加後、n-ヘキサンでダイオキシン類を溶出する。各種化学修飾シリカゲルで除去可能な物質は次の通りである。

- 1) AgNO<sub>3</sub> シリカゲル：含硫化合物、不飽和炭化水素、色素類
- 2) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> シリカゲル：脂肪、フタル酸エステル類、炭化水素、色素類
- 3) KOH シリカゲル：水酸化 PCB、塩化フェノール、色素類
- 4) シリカゲル：多環芳香族炭化水素の大部分、HCH

多層シリカゲルカラムに続きアルミナカラム精製が適用されることが多い。一般的には活性度の塩基性や中性アルミナが使用される。ここでは、上記の多層カラムで除去できない塩化ベンゼン、低極性 PCB を溶出除去した後に Co-PCB を、続いて PCDD、PCDF を分取する。

アルミナカラムクロマトグラフィーでの精製後、さらにダイオキシン類などの扁平化合物に強い親和力をもつ、活性炭カラムクロマトグラフィーを用いて精製することが多い。この精製により活性炭に低親和性の PCB、塩化ジフェニルエーテル、塩化ベンゼン等が除去可能となる。一般的に 2% 程度の活性炭を混合したシリカゲル、ガラスウール、セライトが充填剤として使われる。しかし、これらのものは活性度が変動しやすいために、安定した分離が困難である。さらに、最近問題視されている Co-PCB のノンオルト、モノオルトおよびジオルト体の相互分離も難しい。そこで、黒鉛炭素を充填した HPLC カラムはこれらの問題点を克服した再現性、分離能ともに優れたものである。著者らはこのカラムを毛髪試

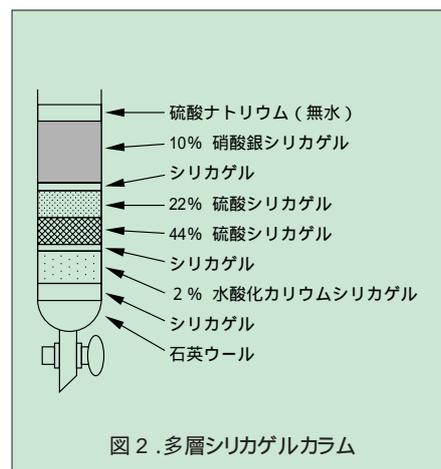


図 2. 多層シリカゲルカラム

料に適用し、PCDF の定量の妨害物となっていたクロルデン類が除去でき、ppt レベルのダイオキシン類の測定が可能となった<sup>1)</sup>。

## 6. 機器分析

ダイオキシン類測定には一般的にガスクロマトグラフ (GC) および質量分析計 (MS) を連結して使用される。これはガスクロマトグラフの分離能および定量的情報が極めて優れていることと、質量分析計の微量な試料の定性的情報が得られることによりそれぞれの利点を生かし、短所を補うものである。以上で述べてきた精製法を採用しても、ダイオキシン類精製画分中にはまだ他の環境汚染物質が混在しているため、高分離能 (キャピラリーカラム装着) 高分解能 GC/MS による高精度分析が行われる。しかし、分析に必要な分解能は 10,000 以上が要求され、試料中に存在する汚染物質によってはモニターイオンに測定対象物質以外の化合物が検出される場合がある。

分析には EI (電子衝撃型) SIM (選択イオンモニタリング) 法が用いられ、その設定質量数は表 2 に示したイオンが採用され、そのイオンは強度の強い 2 つのイオンである。定性については標準品と保持時間が一致し、塩素同位体比が ± 15% 以内の誤差で一致

することが条件となる。定量については相対検量線法が主に用いられ、<sup>13</sup>Cラベル化体とNative体の相対比からダイオキシン類を算出する。

ダイオキシン類の異性体分析を行うために繁用されるキャピラリーカラムを以下に示す。

4塩化～6塩化PCDD、PCDF異性体分析用：Supelco製SP-233〔シアノプロピル系、60m〕Chrompack製CP-Sil88あるいは相当品

7塩化、8塩化PCDD、PCDF分析用：Supelco製SPB-5（5%フェニル基含有メチルシリコン系、30m）J&W社製DB-5あるいは相当品

4塩化～7塩化Co-PCB分析用：J&W社製DB-17（50%フェニル基含有メチルシリコン系、30m）あるいはSGE社製HT-8（8%フェニル基含有カルボラン系、50m）

分析結果の評価はクリーンアップスパイクの回収率で行い、

50～120%の範囲であることを確認し、この範囲からはずれている試料については信頼性のないデータと見なし再分析を行う。

表2.ダイオキシン類の設定質量数とその強度比

	[M] <sup>+</sup>	[M+2] <sup>+</sup>	[M+4] <sup>+</sup>
TCDDs	319.8965 (76.42)	321.8936 (100)	
PeCDDs	353.8576 (61.26)	355.8546 (100)	357.8517 (65.54)
HxCDDs		389.8156 (100)	391.8127 (81.72)
HpCDDs		423.7767 (100)	425.7737 (97.91)
OCDD		457.7377 (87.65)	459.7348 (100)
TCDFs	303.9016 (77.55)	305.8987 (100)	
PeCDFs		339.8597 (100)	341.8568 (65.41)
HxCDFs		373.8207 (100)	375.8178 (81.60)
HpCDFs		407.7818 (100)	409.7788 (97.78)
OCDF		441.7428 (87.74)	443.7398 (100)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TCDDs	331.9368	333.9338	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCDDs		367.8949	369.8919
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCDDs		401.8559	403.8530
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCDDs		435.8169	437.8140
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -OCDD		469.7780	471.7750
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TCDFs	315.9419	317.9389	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCDFs		351.9000	353.8970
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCDFs		385.8610	387.8580
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCDFs		419.8220	421.8191
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -OCDF		453.7830	455.7801
TCB	289.9224 (76.67)	291.9194 (100)	
PeCB		325.8804 (100)	327.8775 (65.29)
HxCB		359.8415 (100)	361.8385 (81.48)
HpCB		393.8025 (100)	395.7995 (97.67)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TCB	301.9626	303.9197	
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeCB		337.9207	339.9177
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxCB		371.8817	373.8788
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpCB		405.8428	407.8398

〔参考文献〕

- 1) H. Miyata et al.: Organohaligen Compounds, 30, 154-157, 1996
- 2) L. L. Lamparski et al.: Anal. Chem., 52, 2045-2054, 1980

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
040-27481	ダイオキシントラップビーズ (煙道中ダイオキシン吸着剤)	ダイオキシン類分析用	200g	25,000
167-19251	2% 水酸化カリウムシリカゲル	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
197-11611	10% 硝酸銀シリカゲル	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
191-11631	44% 硫酸シリカゲル	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
194-11621	22% 硫酸シリカゲル	ダイオキシン類分析用	100g	17,000

010-17831	アセトン	ダイオキシン類分析用	1ℓ	2,900
016-17833			3ℓ	6,900
048-26321	ジクロロメタン	ダイオキシン類分析用	1ℓ	3,500
044-26323			3ℓ	8,800
049-27451	ジエチルエーテル	ダイオキシン類分析用	1ℓ	6,200
050-06661	エタノール(99.5)	ダイオキシン類分析用	1ℓ	5,000
083-07391	ヘキサン(n-#)	ダイオキシン類分析用	1ℓ	2,400
089-07393			3ℓ	6,000
136-13461	メタノール	ダイオキシン類分析用	1ℓ	2,800
132-13463			3ℓ	6,700
203-14141	トルエン	ダイオキシン類分析用	1ℓ	3,300
209-14143			3ℓ	8,300

# Wakopak Combi ODS カラムについて

和光純薬工業株式会社 大阪研究所 上森 仁志

約 10 年前から始まったコンビナトリアルケミストリーは、医薬開発での有用性が認められ、ハイスループットスクリーニング技術と合わせて創薬研究に欠かせない手法として定着しているように思われる。コンビナトリアル合成は、より短時間に多種多様な化合物を一度に合成できるメリットを持ち、目的とする化合物を一つ一つ合成していた従来の方法に比べ格段のスピード化がはかられた。この合成された“多種多様な化合物の混じりもの”は、そのまま有効性の評価にかけられる場合も多かったが、“多種多様な化合物の混じりもの”のままでは作用を見ることは有用な作用を見逃したり、効果を正し

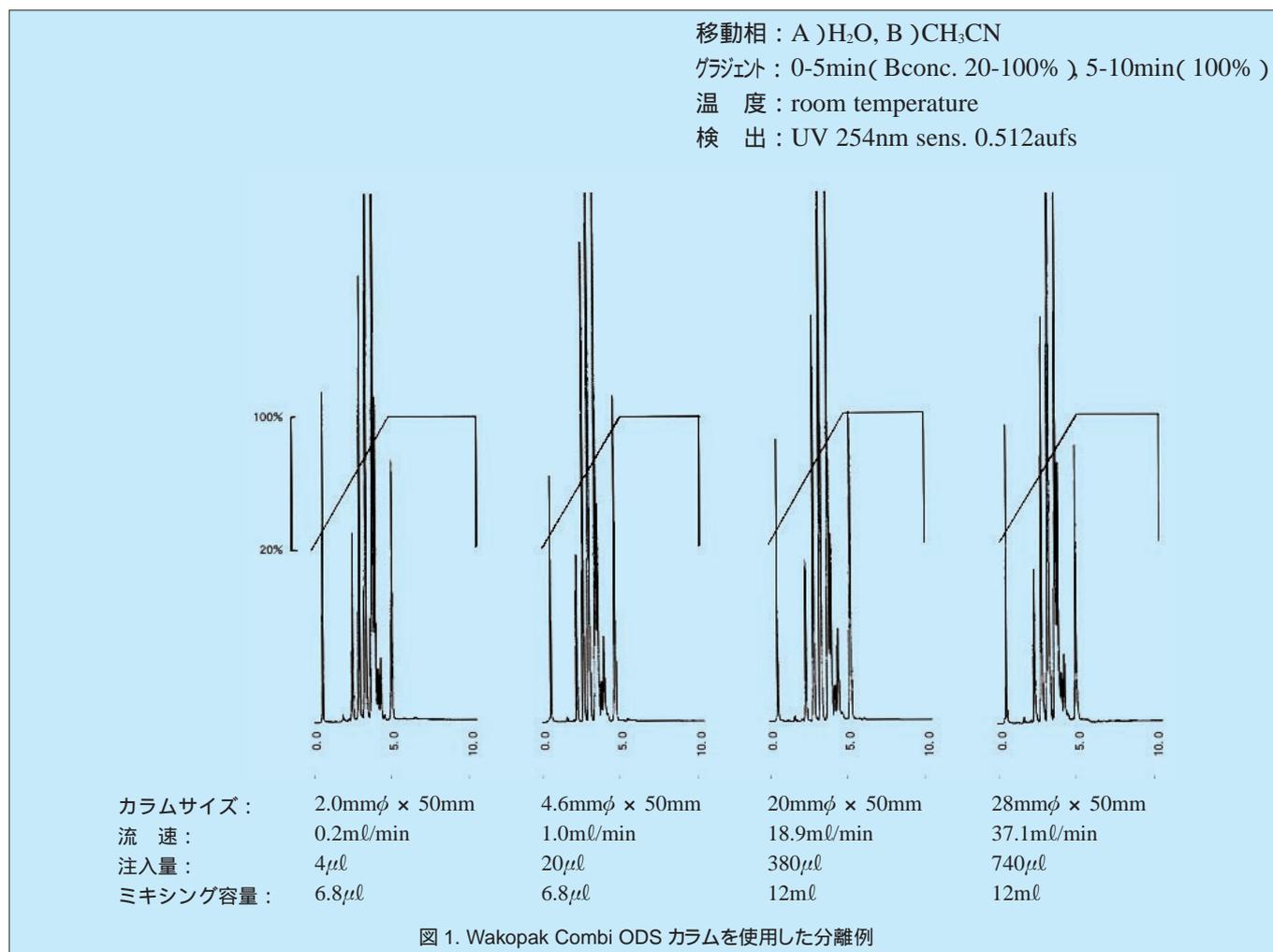
く判断することが困難との見知から種々の精製操作が取入れられるようになってきた。精製方法としては、固相抽出ミニカラム、フラッシュクロマト、HPLC 法が行われているが、とりわけ短時間分離が可能で、MS と直結すれば直接構造解析が可能となる HPLC グラジェント溶出法が主流と考えられる。

今回、開発した Wakopak Combi ODS カラムは、コンビナトリアル合成後の HPLC 精製に最適となるように設計開発した ODS カラムであり、親水性の高い化合物から疎水性の高い化合物まで広範囲に適用可能で、金属配位性化合物はもちろん、酸性から塩

基性化合物までシャープなピークとして検出可能である。また、高流速グラジェント法に対応できるようカラムの圧力損失を最小限に抑えるよう設計されている。Wakopak Combi ODS カラムは、カラム長が 50mm で、汎用タイプとして内径 4.6mm、構造解析用として内径 2.0mm、分取用として内径 20mm と 28mm の 4 種類をラインナップした。下図に高速分離例を示したが、内径 2.0mm から 28mm まで完全な相関性が認められ、使用目的に応じて簡単に条件移行が可能である。

## 〔参考資料〕

現代化学 11(1998)特集：コンビナトリアルケミストリーの新展開



## コンビナトリアルケミストリー用

### ワコーパック Combi ODS

ワコーパック Combi ODS は粒子径 5 $\mu$ m 高純度シリカゲル使用の ODS を充てんした HPLC 用カラムです。コンビナトリアルケミストリーにおいて要求される、迅速な分析・分離精製が可能です。

#### 〔特長〕

1. 高分離・高保持能
2. 塩基性化合物の分析に優れる高エンドキャッピング充てん剤
3. 分析から分取へのスケールアップが容易

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak® Combi ODS	2.0 $\phi$ × 50mm	ウォーターズ	エニ W	27,000
	4.6 $\phi$ × 50mm	ウォーターズ	エカ W	27,000
		デュボン	エカ D	
	4.6 $\phi$ × 50mm × 4本セット	ウォーターズ	エイ W	80,000
		デュボン	エイ D	
	20.0 $\phi$ × 50mm	ウォーターズ	エ X W	90,000
28.0 $\phi$ × 50mm	ウォーターズ	エツ W	220,000	

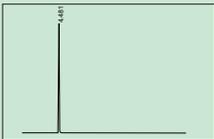
## 多環芳香族炭化水素標準品

### HPLC 用カラム ワコーパック WS-PAHs

環境中に広く存在する環境汚染物質である多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbons: PAHs) 標準品です。ワコーパック WS-PAHs を使用することで、16 成分の短時間一斉分析が可能です。

#### 〔現品説明書〕

コード No. 010-17571  
アセナフテン標準品  
Acenaphthene Standard  
別名: 1,8-Ethylenenaphthalene  
CAS 登録番号: { 83-32-9 }  
構造式:  
  
C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>=154.21  
品質: 白色結晶  
m.p. 94.8  
含量 100.0%(HPLCによる)  
本品の液体クロマトグラムを示します。

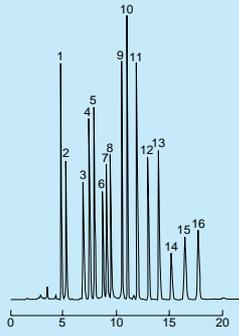


LIQUID CHROMATOGRAM

Sample	Acenaphthene Standard 0.01% CH <sub>3</sub> CN, 10 $\mu$ l	Column	Wakosil-PAHs (4.6 × 250mm) 30
Flow rate	1.0ml/min	Eluent	CH <sub>3</sub> CN: H <sub>2</sub> O=9:1
Atten	7	Detection	UV 254nm
Instrument	Shimadzu LC 9A	Operator	S. Nakao

WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

#### 〔分析例〕 EPA 手法 610 記載の PAHs16 成分のクロマトグラム



充てん剤: Wakosil-PAHs  
カラムサイズ: 4.6 $\phi$  × 250mm  
溶離液: A: CH<sub>3</sub>OH / H<sub>2</sub>O=80/20 (V/V)  
B: CH<sub>3</sub>CN100%  
0-4min. B: 10%  
4-7min. B: 10-100%  
7-25min. B: 100%  
流速: 1.0ml/min.  
温度: 30  
検出: UV 254nm  
検試料: 1) Naphthalene  
2) Acenaphthylene  
3) Acenaphthene  
4) Fluorene  
5) Phenanthrene  
6) Anthracene  
7) Fluoranthene  
8) Pyrene  
9) Benzo[a]anthracene  
10) Chrysene  
11) Benzo[b]fluoranthene  
12) Benzo[k]fluoranthene  
13) Benzo[a]pyrene  
14) Dibenzo[a,h]anthracene  
15) Benzo[ghi]perylene  
16) Indeno[1,2,3-cd]pyrene

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
010-17571	アセナフテン標準品	環境分析用	100mg	5,500
017-17581	アセナフチレン標準品	環境分析用	100mg	12,000
015-04211	アントラセン	99.5+%(cGC)標準品	5g	3,500
021-13641	ベンゾ [a] アントラセン標準品	環境分析用	100mg	10,000
028-13651	ベンゾ [b] フルオランテン標準品	環境分析用	100mg	12,000
025-13661	ベンゾ [k] フルオランテン標準品	環境分析用	100mg	12,000
022-13671	ベンゾ [ghi] ペリレン標準品	環境分析用	20mg	14,000
020-13591	ベンゾ [a] ピレン標準品	環境分析用	100mg	10,000
032-17511	クリセン標準品	環境分析用	100mg	10,000
041-26791	ジベンゾ [a,h] アントラセン標準品	環境分析用	100mg	14,000
063-03891	フルオランテン標準品	環境分析用	100mg	5,500
066-03881	フルオレン標準品	環境分析用	100mg	5,500
091-04451	インデノ [1,2,3-cd] ピレン標準品	環境分析用	20mg	14,000
145-06881	ナフタレン標準品	環境分析用	100mg	5,500
162-19441	フェナントレン標準品	環境分析用	100mg	5,500
169-19451	ピレン標準品	環境分析用	100mg	5,500

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak® WS-PAHs	2.0 $\phi$ × 250mm	デュボン	モ W D	60,000
		ウォーターズ	モ W W	
	4.6 $\phi$ × 250mm	デュボン	モ I D	60,000
		ウォーターズ	モ I W	

Mallinckrodt Baker, Inc.



## 新固相抽出カラム

### スピーディスク SPE カラム

新構造のディスクがハイスピード固相抽出を可能にしました。

#### 〔特長〕

- ・10 $\mu$ mの充てん剤をディスク内に保持させた新構造の高性能SPEカラムで、従来の40 $\mu$ mSPEと比較して1/6の溶媒量、1/10の時間で固相抽出が可能です。
- ・フィルター状のため微粒子等による目詰まりがありません。
- ・10 $\mu$ mの充てん剤ですから高効率で短時間で固相抽出操作が可能です。
- ・豊富な充てん剤種とサイズをラインアップしています。

#### 〔充てん剤種〕

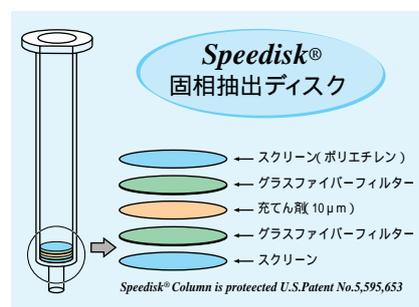
逆相：8種類、吸着：1種類、順相：3種類、イオン交換：3種類  
他に特殊用途：1種類、ポリマー：1種類

#### 〔サイズ〕

1ml シリンジ (10, 20, 35mg ゲルディスク)  
3ml シリンジ (35, 50, 100mg ゲルディスク)  
6ml シリンジ (10, 100, 200mg ゲルディスク)

#### 〔用途〕

- ・医薬品分析、環境分析
- ・ハイスループットスクリーニング、コンビナトリアルケミストリー精製



コード No.	メーカーコード	品名 (ゲル充てん量)	容量	希望納入価格 (円)
566-25992	7606-01	スピーディスク C <sub>18</sub> (20mg)	1ml × 100 本	37,500
560-25995	7606-04	スピーディスク C <sub>18</sub> (50mg)	3ml × 50 本	25,000
564-25998	7606-08	スピーディスク C <sub>18</sub> (100mg)	6ml × 30 本	27,600
567-26022	8163-01	スピーディスク シリカ SI (20mg)	1ml × 100 本	36,700
561-26025	8163-04	スピーディスク シリカ SI (50mg)	3ml × 50 本	25,000
565-26028	8163-08	スピーディスク シリカ SI (100mg)	6ml × 30 本	30,000

その他の充てん剤、サイズもございますので、お問い合わせ下さい。

## ベンゾジアゼピン系向精神薬

ベンゾジアゼピン骨格を基本構造とする化合物群の総称で、この一連の化合物は特有の抗不安作用、催眠鎮静作用、骨格筋弛緩作用を有しています。

動物実験及び薬毒物試験のための標準品として用いられます。

\*ご購入に際しては、「向精神薬試験研究施設設置者登録証」等の許認可証が必要です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-17171	Alprazolam	生化学用	500mg	30,000
020-13471	Bromazepam	生化学用	500mg	25,000
031-17221	Chlordiazepoxide	生化学用	500mg	15,000
038-17231	Clonazepam	生化学用	500mg	25,000
045-18901	Diazepam	生化学用	500mg	3,780
067-03791	Flunitrazepam	生化学用	500mg	25,000
060-03801	Flurazepam	生化学用	500mg	20,000
122-04591	Lorazepam	生化学用	500mg	25,000
139-12971	Medazepam	生化学用	500mg	20,000
142-04831	Nitrazepam	生化学用	500mg	3,600
158-02031	Oxazepam	生化学用	500mg	25,000
162-19181	Prazepam	生化学用	500mg	30,000
205-14221	Triazolam	生化学用	500mg	30,000

ここに記載されている試薬は試験・研究用のみ使用されるものであり、医療には用いられません。

## 硝酸マグネシウム溶液【10mg/ml Mg 15% 硝酸溶液】

## 硝酸ニッケル( )溶液【10mg/ml Ni 15% 硝酸溶液】

原子吸光分析用

原子吸光分析において、共存金属やイオンなどの影響を受けやすい元素を分析する際に、マトリックス修飾剤として使用されます。セレン、カドミウム、鉛及びヒ素などの微量分析に最適です。

〔規格〕

銀(Ag) : 50ppb 以下  
 カドミウム(Cd) : 50ppb 以下  
 タリウム(Tl) : 100ppb 以下  
 鉛(Pb) : 100ppb 以下

ヒ素(As) : 100ppb 以下

セレン(Se) : 100ppb 以下

濃度 : 9.5 ~ 10.5 mg/ml  
 (各々Mg, Niとして)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
132-13321	硝酸マグネシウム溶液 【10mg/ml Mg 15% 硝酸溶液】	原子吸光分析用	100ml	6,000
141-06981	硝酸ニッケル( )溶液 【10mg/ml Ni 15% 硝酸溶液】	原子吸光分析用	100ml	6,000

〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
124-02351	塩化ランタン溶液 La: abt.10%	原子吸光分析用	100ml	2,850
124-01832	酸化ランタン, 99.99%	光学用	25g	2,100
128-01835			500g	9,400
163-17531	硝酸パラジウム( )溶液 【5mg/ml Pd 硝酸 1+1 溶液】	原子吸光分析用	100ml	10,500
195-07361	塩化ストロンチウム六水和物	原子吸光分析用	100g	4,400

## Protease Inhibitor Mixture

生化学用

様々なプロテアーゼをカクテルにした物です。タンパク質の精製等に有効です。

### プロテアーゼ・エステラーゼ用

形状：凍結乾燥品

再溶解：100mlの蒸留水で溶解した時の各プロテアーゼの濃度は右記(内容)の通りです。溶液状態で保存する場合は、あらかじめ必要量を小分けして、-20℃保存して下さい。

内容：

阻害剤	M.W.	バイアル中の濃度	ターゲット プロテアーゼ
AESBF, Hydrochloride	239.70	500µmol/l	Serine Proteases
Aprotinin, Bovine Lung	6511.45	150nmol/l	Serine Proteases Esterases
E-64, Protease Inhibitor	357.41	1µmol/l	Cysteine Proteases
EDTA, Disodium	372.24	0.5mmol/l	Metalloproteases
Leupeptin, Hemisulfate	475.59	1µmol/l	Cystein Proteases Trypsin-like Proteases

貯法：-20℃

167-19511 1バイアル 6,500円

### 細菌抽出液用

形状：凍結乾燥品

再溶解：初めに1mlのDMSOを添加しゆっくりと溶解します。その後、4mlの蒸留水を添加します。この時の各プロテアーゼの濃度は右記(内容)の通りです。溶液状態では、-20℃保存で1ヶ月安定です。

内容：

阻害剤	M.W.	バイアル中の濃度	ターゲット プロテアーゼ
AESBF, Hydrochloride	239.70	20mmol/l	Serine Proteases
Bestatin	308.38	1.7mmol/l	Aminopeptidase Bs Leucine Aminopeptidase
E-64, Protease Inhibitor	357.41	200µmol/l	Cysteine Proteases
EDTA, Disodium	372.24	85mmol/l	Metalloproteases
Pepstatin A	685.89	2mol/l	Aspartic Proteases

貯法：-20℃

167-19491 1バイアル 13,000円

### 動物細胞・組織抽出液用

形状：1ml DMSO 溶液(凍結品)

貯法：-20℃

内容：

阻害剤	M.W.	バイアル中の濃度	ターゲット プロテアーゼ
AESBF, Hydrochloride	239.70	100mmol/l	Serine Proteases
Aprotinin, Bovine Lung	6511.45	80µmol/l	Serine Proteases (Broad Spectrum)
Bestatin	308.38	5mmol/l	Aminopeptidase Bs Leucine Aminopeptidase
E-64, Protease Inhibitor	357.41	1.5mmol/l	Cysteine Proteases
Leupeptin, Hemisulfate	475.59	2mmol/l	Cystein Proteases Trypsin-like Proteases
Pepstatin A	685.89	1mmol/l	Aspartic Proteases

160-19501 1バイアル 11,000円

## 第 37 話 リムルス試薬の活性化に伴う反応タイムコース

リムルス試薬 (LAL) のゲル化は、複数のプロテアーゼ前駆体の活性化を伴うカスケード機構によって起こります<sup>1)</sup>。トキシノメーターを用いた比濁時間分析法では、このゲル化の過程を観察しています。この反応タイムコースは特長的な形状をしているのですが、今回はその意味について考えてみたいと思います。

トキシノメーターに表示される反応タイムコースを観ていると、次のことに気がつきます。すなわち、反応にはラグがあり、透過光量が減少し始めると徐々にその変化率が大きくなり、最終的には変化率の減少とともに一定の透過光量に落ち着くという現象です。トキシノメーターではゲルの生成を観察していると考えられます。それでは、リムルス試験におけるゲルの生成は、必ずラグを持つタイムコースになるのでしょうか。この点に関して、LAL のカスケード機構から考えてみましょう。LAL のゲル化は、図 1 のように複数のプロテアーゼ前駆体が順次活性化され、最終的に生成する Coagulin が重合することによって起こります。Coagulin の生成過程における、各因子の活性の変化を考えてみましょう。

エンドトキシンによる LAL の活性化では、まず Factor C が活性化されます。活性化型 Factor C の量が反応液中のエンドトキシン量に比例すると仮定すると、その活性は、ごく短い時間で一定となります。次に、Factor B は

ほぼ一定量の活性化型 Factor C によって活性化されることになり、初期に最大となりますが、基質となる Factor B の減少と活性化型の Factor B の増加により徐々に減少し、ついには生成が止まると予想されます。さて、次に出現する Clotting enzyme はどのような挙動を示すでしょうか。Factor B の場合と違い、Proclotting enzyme を水解する活性化型 Factor B の量が変化しますから、Clotting enzyme の生成量の変化は少し複雑です。活性化型 Factor B 量が徐々に増加する初期には、Clotting enzyme の生成速度が徐々に速くなることとなります。この生成速度は、活性化型 Factor B 量が一定になったところで最大になり、その後、基質である Proclotting enzyme 量の減少と生成物である Clotting enzyme の増加により徐々に減少、最終的に生成が止まるということになります。Clotting enzyme の生成量のタイムコースを予想すると、初期にラグがあり、活性出現初期には下に膨らんだ形状、後期には上に膨らんだ形状となった後、一定になると考えられます。さらに、Coagulin の生成を考えると、タイムコースの形状自体は同様ですが、ラグはさらに長くなると思われます。図 2 は、これらの活性化型因子の生成タイムコースの予想図です。トキシノメーターの場合、ゲルの量を透過光量の減少として観察しますから、

タイムコースの形は上下逆になります。

以前筆者らは、この反応タイムコースの特長がエンドトキシンと  $\beta$ -グルカンで異なることを報告しました<sup>2)</sup>。すなわち、エンドキシンの場合は、ラグが長く、濁度変化が急激に起こるのですが、 $\beta$ -グルカンの場合は、ラグが比較的短く、

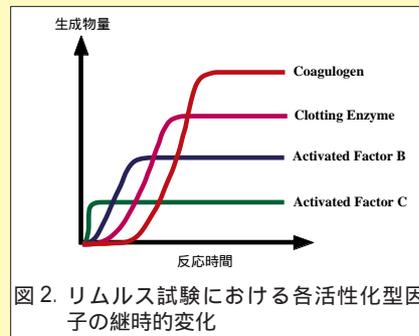


図 2. リムルス試験における各活性化型因子の継時的変化

濁度変化も緩やかに起こるというものです。このことも、LAL のカスケード機構で、 $\beta$ -グルカンによるゲル化の系は、エンドトキシンに比べ、関連する因子が 1 つ少ないということから理解できると思われます。

いずれにしても、リムルス試験では、比濁時間分析法、合成基質法に関わらず、反応系の最終生成物のタイムコースはラグを持つことが予想されます。そして、これは実際の測定で観察されている通りです。すなわち、ラグのない反応タイムコースが認められた場合は、エンドトキシンや  $\beta$ -グルカンによる LAL の活性化とは異なる変化を観察しているということになります。比濁時間分析法の場合、反応液の初期の透過光量を 100% として測定を始めるため、試料が少々濁っていても測定中に濁度変化が起こらなければ、測定値に影響はありません。しかし、筆者らもまれにラグのないタイムコースを観察することがあるので、新しい種類の試料を測定する場合にはタイムコースの観察も重要です。異常タイムコースについては、次回に詳しく考えてみたいと思います。

### 〔参考文献〕

- 1) Iwanaga, S. et al. : *Thromb. Res.*, 68, 1-32 (1992)
- 2) Tsuchiya, M. et al. : *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2523-2526 (1990)

今回は「第 38 話 非特異的濁り」の予定です。

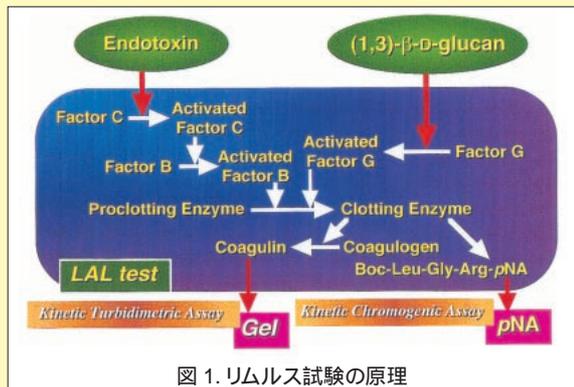


図 1. リムルス試験の原理

## 類骨 (オステオイド) の染色

### ビラヌエバ骨染色試薬

通常、病理染色において「骨」はパラフィン包埋するために脱灰しなければならず、結果カルシウム分の溶出により、骨本来の組織状態で染色させる事は困難でした。しかしながら、非脱灰のまま樹脂包埋し、研磨切片や薄切片を得ることができるようになり、ますます骨組織の形態観察の重要性が高まっています。

ビラヌエバ骨染色試薬は非脱灰硬組織の染色試薬であり、類骨(骨の表層部にある未石灰化骨)と石灰化骨を明確に染め分ける事が可能です。骨軟化症や骨粗鬆症などの骨疾患の研究や骨形成能の評価に有用です。

#### 〔染色液調製方法〕

試薬 500mg を 70% メタノール 100 ml に溶解させる。

- \* 溶けにくい場合の処理 \*
- ・メタノールに一度に入れずに少しずつ添加し攪拌しながら溶かす。
- ・50 くらいに温めながら溶かす。
- \* 多少の溶け残りがあっても使用上問題はなく、そのまま置いておくと時間と共に完全に溶ける。

#### 〔染色法〕

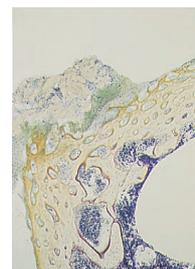
70% エタノール固定済み、または未固定の標本を上記染色液に入れる。室温下 3 ~ 10 日間置く。時々真空引きをすると色素の浸透が良くなりムラのない染色ができる。

- \* 染色操作後は通常の樹脂包埋と同様に、脱水・脱脂(エタノール) 樹脂浸透(MMA) 樹脂包埋(MMA) 薄切片作製へと移行する。

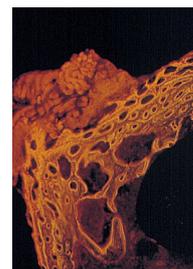
#### 〔染色結果〕

	明視野	蛍光
類骨	赤紫色	赤色
石灰化骨	無色 ~ 薄茶色	黄緑色 ~ 緑色
細胞質	薄紫色 ~ 桃色	無色 ~ 橙色
核	青紫色	赤色
テトラサイクリン	-	黄色
カルセイン	-	黄緑色

ラット大腿骨(10 $\mu$ m)



明視野



蛍光

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
221-01351	ビラヌエバ骨染色試薬	病理研究用	500mg x 10 包	照会



## 天然 BMP 成分

### BMP カクテル

#### 担体 IBC

BMP (Bone Morphogenetic Protein) カクテルとは、牛骨から抽出し、3 段階のクロマトグラフィーを経て部分精製した、ほとんどすべての骨誘導活性成分を含む BMP 画分(天然 BMP カクテル)です。動物実験用に汎用性があるのみならず、未知の生理活性物質をも含む可能性があるため、今後 BMP 研究の新展開の出発点となる研究用試薬です。

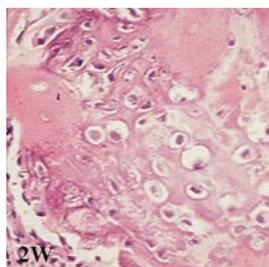
また、BMP カクテルが埋植実験で骨誘導活性を持つためには担体が必要となります。これまで各種の担体が開発されてきましたが、現在までに知られている最も効率が良い担体が天然由来の精製された不溶性骨コラーゲン(IBC) 担体です。

#### 〔用途〕

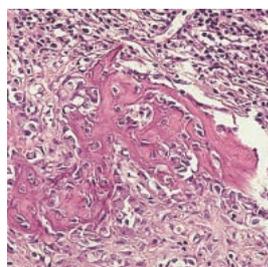
- 骨の分化、誘導実験
- 造血組織の初期発生実験
- 軟骨形成実験

#### 〔使用例〕

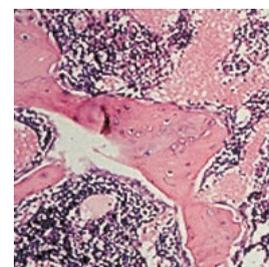
BMP カクテルを担体 IBC に含浸させ、ラットの背部皮下にインプラント後の継時変化



2週目;軟骨形成



3週目;骨形成



4週目;造血を伴った骨の形成

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
309-07001	BG0001	BMP カクテル	100 $\mu$ g	30,000
305-07003	BG0002		1mg	290,000
306-07011	BC0040	担体 IBC	200mg	40,000

## 第8話 アポトーシスとエンドヌクレアーゼ

アポトーシスの本質は、DNAの遺伝情報を消去することにあると考えられる。その実行過程を遂行する分子として、DNAエンドヌクレアーゼが注目を集めている。最近、FasL/Fas系やTNF/TNFR系のアポトーシス誘導機構の解析が進み、カスパーファミリーがその下流に直結していることが明らかとなった。一方、アポトーシスの顕著な特徴であるDNAのヌクレオソーム単位での断片化を司るエンドヌクレアーゼの有力な候補としてDNase  $\gamma$ 、CADがクローニングされ、いよいよアポトーシスの実行機構の全容が解明されようとしている。

## アポトーシスにおけるDNA断片化

アポトーシスの定義ともなっているDNAのヌクレオソーム単位での断片化を触媒するエンドヌクレアーゼの実体は何であろうか。それを究明する一つの手掛りとして、アポトーシスにおけるクロマチンDNAの切断様式を調べることは重要である。そこでまず始めに、断片化したDNAがどのような末端をもっているか、DNA末端標識法を用いて解析した。放射線照射やデキサメサゾンによりアポトーシスを誘発したラット胸腺細胞、あるいは転写阻害剤であるアクチノマイシンDによりアポトーシスを誘発したHL-60細胞のいずれにおいても、断片化したDNAの末端は3'-OH/5'-Pであった(図1)。また、その後の解析により、アポトーシスにおけるDNA切断は、一本鎖DNA切断の蓄積により起こることが示された。これらの結果を考え合わせると、少なくともこれらの系におけるアポトーシスのエンドヌクレアーゼはクロマチンDNAを3'-OH/5'-P型に一本鎖で切断していることになる。

それでは、このDNA断片化を触媒するのはどのようなエンドヌクレアー

ゼなのであろうか。これまでにいくつかの候補が挙げられてきたが、その主なものについてまとめてみる。

## アポトーシスエンドヌクレアーゼ

## 1) DNase I

DNase Iは真核生物のDNaseの中で最もよく研究されているエンドヌクレアーゼであり、Kunitzによりウシ膵臓から結晶化された。その活性は2価陽イオン(Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>のいずれか1つでよい)依存性でアクチンにより阻害される。また、二本鎖DNAを一本鎖で切断し、切断様式は3'-OH/5'-Pである。

Peitschらは、ラット胸腺、リンパ節の細胞核抽出液中に存在するアポトーシス様にクロマチンDNAを断片化するエンドヌクレアーゼ活性が、抗ラットDNase I抗体により阻害され、さらにDNase I遺伝子を発現させたCOS細胞の単離核をCa<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>存在下にインキュベートすると、アポトーシス様のDNA断片化が対照細胞由来の核に比較して増強されることを見出した。彼らはこれらの結果より、細胞がアポトーシスを起こすと、分泌小胞内のDNase Iが核に移行しDNA断片化を行うようになるのではないかと考察している<sup>1)</sup>。その後、前立腺上皮細胞において、アポトーシスに伴うDNase Iレベルの上昇が報告されている。

## 2) DNase II

DNase IIはリソソームに局在する至適pHを酸性側(pH 5以下)にもつエンドヌクレアーゼで、臓器特異性は無い。また、活性には2価陽イオンを必要とせず、DNAを3'-P/5'-OH型で切断する。

Barryらは、HL-60細胞にCa<sup>2+</sup>イオノフォアを用いてアポトーシスを誘

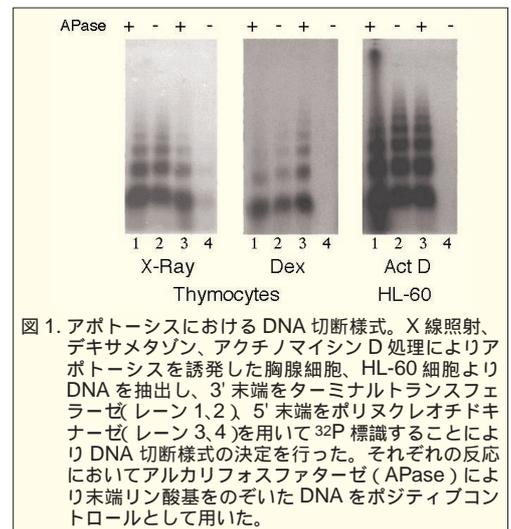


図1. アポトーシスにおけるDNA切断様式。X線照射、デキサメタゾン、アクチノマイシンD処理によりアポトーシスを誘発した胸腺細胞、HL-60細胞よりDNAを抽出し、3'末端をターミナルトランスフェラーゼ(レーン1,2)、5'末端をポリヌクレオチドキナーゼ(レーン3,4)を用いて<sup>32</sup>P標識することによりDNA切断様式の決定を行った。それぞれの反応においてアルカリフォスファターゼ(APase)により末端リン酸基をのぞいたDNAをポジティブコントロールとして用いた。

発させたときのDNA断片化が、細胞内pHの下降(酸性化)と相関することを見出し、DNase IIがアポトーシスに関与する可能性を提唱した。彼らは、CHO細胞の核画分にDNase IIが存在することを示し、さらにその単離核をインキュベートすると、酸性条件下で2価陽イオン非依存的にアポトーシス様のDNA断片化が観察されること、またCHO細胞を酸性条件、H<sup>+</sup>イオノフォア存在下で培養すると、アポトーシスを起こすことなどを明らかにした。これらの結果を踏まえて、彼らはDNase IIがアポトーシスのエンドヌクレアーゼであると結論している<sup>2)</sup>。

昨年DNase II研究の上で最大の障壁であった“cDNAが単離されていない”という問題もようやく解決し<sup>3)</sup>、今後これらのcDNAを用いた早急な解析が期待されている。しかし、DNase IIのDNA切断様式(3'-P/5'-OH)とアポトーシス細胞におけるそれ(3'-OH/5'-P)が一致しないことに対する説明は未だない。

## 3) CAD/DFF40/CPAN

1993年、LazebnikらはM期の細胞抽出液中と単離核を用いて、試験管内でアポトーシスに特徴的な変化を再

現すること、すなわちアポトーシスの無細胞系の構築に成功した<sup>4)</sup>。その後、いくつかのグループにより、それぞれの無細胞系を用いたアポトーシスの分子機構に関する解析が行われたが、特に注目を集めたのはアポトーシス細胞より調製した細胞質液中に DNA 断片化を引き起こす因子が存在するという発見である。この因子は 1997 年、Liu らにより DFF 45 (DNA fragmentation factor 45) として同定された<sup>5)</sup>。その後、Enari らによりマウス WR19L 細胞から Caspase-3 により活性化される DNase, CAD の精製及びクローニングが報告された<sup>6)</sup>。この CAD はそのインヒビターである ICAD とヘテロダイマーを作り不活性化されており、アポトーシス誘導時には Caspase-3 により ICAD が分解され活性化が起こる。非常に興味深いことに、この ICAD はヒト DFF 45 のマウスホモログであった。現在では CAD/DFF40/CPAN (caspase activated endonuclease) は同一のエンドヌクレアーゼであることが示されている。CAD の性状については、Mg<sup>2+</sup> 依存性、Zn<sup>2+</sup>, ATA により阻害されることが分かっているが、それ以外については不明である。

#### 4) DNase $\gamma$

DNase  $\gamma$  は分子量が 33 kDa、至適 pH を 7.2 に持つ Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> 依存性中性エンドヌクレアーゼであり、Zn<sup>2+</sup> によって強く阻害され、クロマチン DNA を 3'-OH/5'-P 型で切断することからアポトーシスの DNA 断片化を触媒していることが示唆されていた。

cDNA クローニングの結果、ラット DNase  $\gamma$  は 310 アミノ酸残基の分子量 35.7 kDa の前駆体として合成され、N 末端の 25 アミノ酸残基が切断されることにより、分子量 33 kDa の成熟型 DNase  $\gamma$  になることが明らかとなった<sup>7)</sup>。また、DNase  $\gamma$  の C 末端側には SV40 型核移行シグナルが存在し、これは本酵素が核内に局在する事実と一致する。また酵素本体を構成している 285 アミノ酸残基の中央部には DNase I に類似した活性中心が存在し、

これら DNase  $\gamma$  に特徴的な基本構造は、ラット、マウス、ヒトのみならず、Xenopus においても保存されている(図 2)。

この DNase  $\gamma$  は実際、細胞内でアポトーシスに伴い活性化を受け、クロマチン DNA をラダー状に切断するのを知るため DNase  $\gamma$  の安定発現株を作製し解析を行った。HeLa S3 細胞及びコントロールである HeLa S3/neo は、C2 セラミド、24 時間処理により細胞死は起こすものの DNA ラダーの出現は観察されなかった。しかし、HeLa S3/DNase  $\gamma$  細胞においては細胞死に伴う DNA 断片化が観察された(図 3)。

我々は最近、完全長の DNase  $\gamma$  の C 末端に GFP (Green fluorescence protein, 緑色の蛍光を発する) を融合した組み換えタンパクを用いて DNase  $\gamma$  が通常、核膜に局在し、アポトーシスの誘発に伴い核内へと移行することを明らかとしている(未発表データ)。以上の結果より、DNase  $\gamma$  がアポトーシスの刺激に伴い核へ移行し、DNA 断片化を触媒することが示された。

#### おわりに

アポトーシスの分子機構の解析が、ここ数年急速に進展してきている。そのなかでも DNA 断片化に関するエンドヌクレアーゼに関する研究はホットな話題を提供している。様々な刺激によるアポトーシスにおいて、細胞がどのようにエンドヌクレアーゼを使い分けられているかを解明することが今後の課題である。

#### [参考文献]

1) Peitsch, M. C. et al. : Characterization of the endogenous deoxyribonuclease involved in nuclear DNA degradation during apoptosis (programmed cell death)

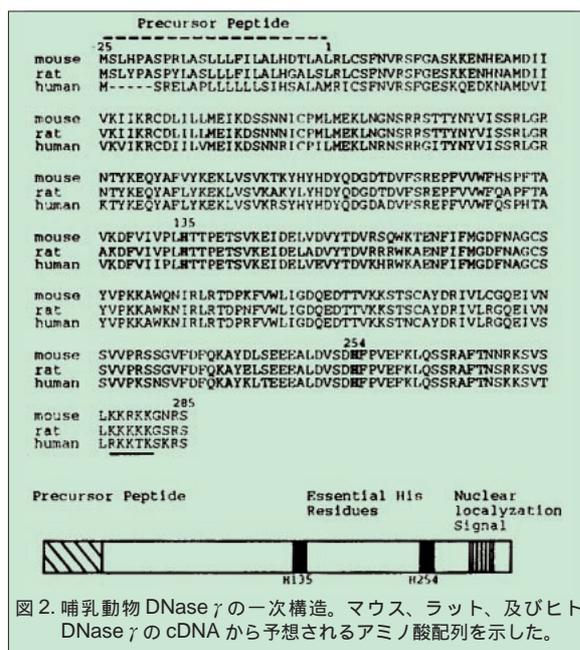


図 2. 哺乳動物 DNase  $\gamma$  の一次構造。マウス、ラット、及びヒト DNase  $\gamma$  の cDNA から予想されるアミノ酸配列を示した。

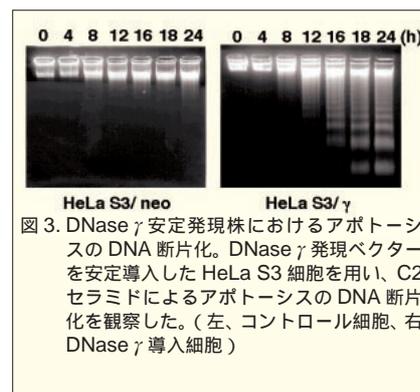


図 3. DNase  $\gamma$  安定発現株におけるアポトーシスの DNA 断片化。DNase  $\gamma$  発現ベクターを安定導入した HeLa S3 細胞を用い、C2 セラミドによるアポトーシスの DNA 断片化を観察した。(左、コントロール細胞、右、DNase  $\gamma$  導入細胞)

EMBO J., 12(1): 371-377, 1993  
 2) Barry, M. A. et al. : Identification of deoxyribonuclease II as an endonuclease involved in apoptosis. Arch. Biochem. Biophys., 300(1): 440-450, 1993  
 3) Shiokawa, D. et al. : Cloning of cDNAs encoding porcine and human DNase II. Biochem. Biophys. Res. Commun., 247(3): 864-869, 1998  
 4) Lazebnik, Y. A. et al. : Nuclear events of apoptosis in vitro in cell-free mitotic extracts: a model system for analysis of the active phase of apoptosis. J. Cell. Biol., 123(1): 7-22, 1993  
 5) Liu, X. et al. : DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis. Cell, 89(2): 175-184, 1997  
 6) Enari, M. et al. : A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature, 391(6662): 43-50, 1998  
 7) Shiokawa, D. et al. : Molecular cloning and expression of a cDNA encoding an apoptotic endonuclease DNase  $\gamma$ . Biochem. J., 332: 713-720, 1998

## 活性型組換えカスパーゼ

カスパーゼは、通常プロカスパーゼとして細胞内に存在し、アポトーシス誘導因子のシグナルを受け取りプロセッシングされ活性化されます。カスパーゼ-8はFas/FasL系のカスパーゼカスケードの上流に位置し、細胞死のシグナルを伝える働きをし、カスパーゼ-3はFas/FasL系、ミトコンドリア系で細胞死の実行段階を担っていると考えられています。

本品は、活性化されたカスパーゼであり、標的基質の活性化及び阻害剤のスクリーニングにご利用頂けます。

### Caspase-3, Human, recombinant, Solution

生化学用

起 源: Human caspase-3 cDNA expressed in *E.coli*

形 状: 50mmol/l HEPES 溶液 (pH 7.4) の凍結品

濃 度: 0.1mg/ml

039-17401

5 $\mu$ g

55,000 円

### Caspase-8, Human, recombinant, Solution

生化学用

起 源: Human caspase-8 cDNA expressed in *E.coli*

形 状: 20mmol/l TBS (pH 7.9) の凍結品

活 性: 100units/ $\mu$ l

036-17411

3,000units

55,000 円

## 生理活性タンパク質測定 EIA キット(競合法)

Cytimmune Science Inc.

抗ガン剤にも検討されている血管新生阻害物質；エンドスタチンの測定に

### エンドスタチン EIA キット

適用サンプルタイプ:

血清、血漿、尿、培養上清など

感 度: 1.95ng/ml

測定範囲: 1.95-500 ng/ml

測定時間: 4 時間

キット内容: 抗ヒトエンドスタチン、ウサギ抗体、エンドスタチン標準品、ビオチン結合エンドスタチン、ストレプトアビジン-ALP、抗ウサギ抗体コート 96 穴マイクロプレート、アッセイ希釈液、血清希釈液、洗浄緩衝液、基質溶液 A&B、反応停止液、プレートシーラー、現品説明書

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
524-33221	AC-215	Human Endostatin ACCUCYTE ELISA Kit	96 回用	123,000

Peninsula Laboratories, Inc.

ソマトスタチン産生腫瘍マーカーともなる成長ホルモン放出抑制因子；ソマトスタチンの測定、多彩な生理活性を持つ知覚ニューロン伝達物質；サブスタンス P の測定に

### ソマトスタチン & サブスタンス P EIA キット

検出限界:

1-3 pg/well( /50 $\mu$ l sample )

測定範囲: 0-10 ng/ml

測定時間: 4.5 時間

キット内容: 一次抗体、標準品、ビオチン化ソマトスタチンまたはビオチン化サブスタンス P、ストレプトアビジン-HRP、プロテイン A コート 96 穴マイクロプレート、アッセイ緩衝液、基質溶液(TMB)、反応停止液(2N HCl)、プレートシーラー、現品説明書

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
521-33231	EIAH-8001	Somatostatin High Sensitivity EIA Kit	96 回用	74,000
528-33241	EIAH-7451	Substance P High Sensitivity EIA Kit	96 回用	74,000

## ロット間差が無く、正確なタンパク質定量に最適なスタンダード IgG

### Protein Standard, IgG Solution( 10mg/ml )

タンパク質定量用

Lowry法やBCA法等でタンパク質を定量する場合に用いる標準タンパク質です。高純度に精製し、またロット毎に様々なタンパク質定量法を用い相関係数を確認していますので、ロット間差がありません。正確なタンパク質

定量を行う場合の標準タンパク質として最適です。

溶 状 : 5 $\mu$ mol/l リン酸緩衝液 ( pH 7.4 ), 30%グリセリン溶液

濃 度 : ロット毎に実測値表示

相関係数 : UV 吸収法、Lowry 法、BCA 法、Bradford 法、DC Protein 法でそれぞれ 0.990 以上であることを確認

160-18881 1ml  $\times$  5 35,000 円

〔関連商品〕

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
163-18871	Protein Standard, BSA Solution ( 10mg/ml )	タンパク質定量用	5 $\times$ 1ml	27,000

## 新規安定型ビタミン C

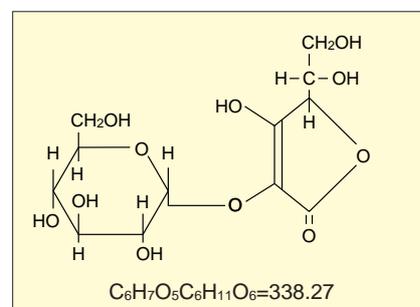
### Ascorbic Acid 2-Glucoside

生化学用

本品は、ビタミン C の酸化還元反応に関与する部位を、グルコースの結合によりマスクした安定型ビタミン C です。組織培養等、ビタミン C を必要とする実験に有効です。

ため、酸化されない安定型ビタミン C

- ・細胞内では、内在する酵素によりビタミン C とブドウ糖に分解されるため、ビタミン C と同様の生理作用を發揮
- ・水に可溶
- ・従来のビタミン C に比べ、耐熱性、耐光性も向上



〔特長〕

- ・ビタミン C が酸化される部位にグルコースを結合しマスクしている

074-04581 1g 4,000 円  
070-04583 10g 19,000 円

## Vitamin D<sub>3</sub> Receptor, Human, recombinant

生化学用

ビタミン D<sub>3</sub> レセプターは、エストロゲンレセプターや甲状腺ホルモンレセプター等のステロイドレセプターファミリーに属し、ホルモン依存性転写調節因子として種々の生体反応に関わっています。本品は、昆虫細胞に感染させたバキュロウイルスより発現したビタミン D<sub>3</sub> レセプターであり、ホルモンの研究及び、医薬品開発他の研究に有用です。

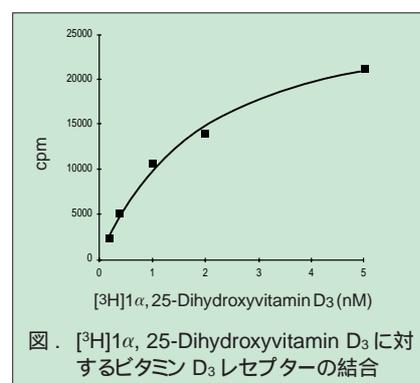
〔分子量〕  
約 48kDa

〔用途〕

- ・ステロイド代謝関係の研究
- ・医薬品等の代謝及び創薬研究
- ・エンドクリンの検出等の研究
- ・神経伝達の研究

〔参考文献〕

- 1) Sone, T. et al. : J. Biol. Chem., 265, 2199(1990)
- 2) Ross, T. K. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 655(1991)
- 3) Li, Z. et al. : Arch. Biochem. Biophys., 310, 347(1994)



〔形状〕

50% Glycerol, 500mmol/l KCl, 2 mmol/l DTT, 1mmol/l EDTA, 50 mmol/l Tris-HCl (pH 7.5)

548-00871 750 pmol 46,000 円

# 脳内 NO と海馬長期増強現象(LTP)

北海道大学大学院 医学研究科 情報薬理学講座 吉岡 充弘、森 清

1949年に刊行された"The Organization of Behavior"において、Hebbは、記憶は学習によって活性化された神経間のより強固な結合によって貯蔵されると提唱した<sup>1)</sup>。しかしその仮説が現実にはシナプスの生理学的な現象として捕らえられるまで25年を要した。1973年にBlissらがウサギの海馬において興奮性入力線維の高頻度刺激の後、シナプス伝達効率の長期的な増加を認めた<sup>2)</sup>。この現象は長期増強現象(long-term potentiation; LTP)と呼ばれ、現在までそのメカニズムを始めとして多くの研究がなされてきた。さらにLTPが実際の記憶学習行動と関連性があるという報告も数多くなされている<sup>3)</sup>。

一酸化窒素 nitric oxide (NO) は脳内で、生理学的、病態生理学的に重要な役割を果たしていると考えられている。NO合成酵素 (NO synthase; NOS) 阻害薬により放射状迷路や水迷路などの記憶学習行動が障害されることから<sup>4)</sup>、NOは記憶学習に重要な役割を果たしていることが推測される。またNOS阻害薬によって、CA1領域でのLTPが抑制されることから<sup>5,6)</sup>、NOはLTPの形成においても神経伝達様物質として作用していることが示唆されている。

CA1領域におけるLTPの発現には、シナプス後細胞におけるグルタミン酸受容体のサブタイプであるNMDA受容体の活性化が必要であり、LTPの維持にはシナプス前終末からの持続的な興奮性神経伝達物質の遊離が関与していると考えられている。つまりLTPの形成にはシナプス後細胞からシナプス前終末への逆行性神経伝達物質が存在することが示唆される。NOはシナプス後細胞で産生されること、NO捕捉蛋白であり細胞膜を通過できないヘモグロビンによってLTPが抑制されたことから、NOは細胞間

を拡散してLTP形成に作用していることが示されている<sup>6,7)</sup>。このようにNOは、CA1領域におけるLTP形成の逆行性神経伝達物質として着目されている。

このLTPに関わるNOSのisoformに関してはいくつか議論があったが、最近、神経型NOS (nNOS)、血管内皮型NOS (eNOS) のノックアウトマウスを開発によってその議論も決着をみそうである。nNOS、eNOS単独のノックアウトマウスではLTPに変化は認められないものの、nNOS、eNOSのダブルノックアウトマウスではLTPの著明な抑制が認められた<sup>8,9)</sup>。このことからnNOS、eNOSともにLTP形成に関わっていると考えられている。

シナプス前終末に取り込まれたNOはguanylyl cyclase (GC)を介してcGMPを上昇させる。GC阻害薬であるODQがCA1領域におけるLTPを抑制し<sup>10)</sup>、cGMPアナログである8-Br-cGMPがLTPの形成を促進したことから<sup>11)</sup>、CA1領域におけるLTPの形成にcGMPが関与している可能性が示唆された。さらにSonらは、NOSのノックアウトマウスではODQによるLTPの抑制が認められなかったことを見出し<sup>12)</sup>、LTP形成におけるGC、cGMPの作用部位はNOSの下流に存在することを証明した。

cGMPはcGMP-dependent protein kinase (PKG)の活性化によってさまざまな効果を引き起こすと考えられている。PKGの阻害薬、Rp-8-Br-cGMPsやKT5823がLTPを抑制し、PKGの活性化物質、8-pCPT-cGMPがLTPの形成を促進することから<sup>11)</sup>、PKGがLTP形成に関与していることが示唆された。

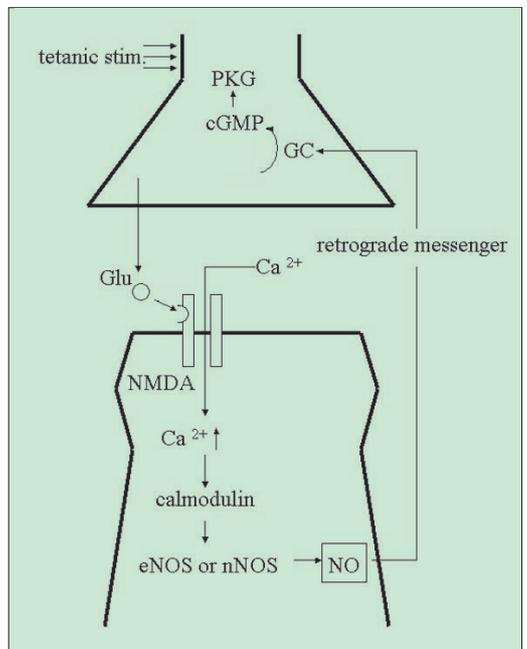


図1. CA1領域におけるLTP形成の分子メカニズム  
高頻度刺激によってシナプス後細胞にて、NOSが活性化されNOの産生を引き起こす。産生されたNOは逆行性神経伝達物質として神経前終末に取り込まれguanylyl cyclaseやcGMP依存性蛋白kinaseを活性化し、興奮性神経伝達物質の遊離を促進させる。  
Glu : グルタミン酸  
NOS : 一酸化窒素合成酵素  
GC : guanylyl cyclase  
PKG : cGMP依存性蛋白 kinase

LTP形成には、高頻度刺激により遊離されたグルタミン酸を介するNOSの活性化、それに引き続いて産生されたNOが逆行性神経伝達物質としてシナプス後細胞からシナプス前終末に取り込まれ、GCやPKGの活性化によって興奮性神経伝達物質の遊離を長期的に制御していると考えられている。またPKGはcyclic AMP responsive element binding protein (CREB)をはじめとする多くの蛋白をリン酸化することで<sup>13,14,15)</sup>、シナプスの可塑性をより強固なものにしていると考えられるが、PKGのシナプス前終末での作用は多岐に渡っており、その大部分が解明されていないのが現状である。

〔参考文献〕

1) Hebb, D.O. : The Organization of Behavior, Wiley, New York (1949)  
 2) Bliss, T.V.P., and Gardner-Medwin, A.R., : J. Physiol., 232, 331 (1973)  
 3) Roman, F.S., Truchet, B., Marchetti, E., Chaillan, F.A. and Soumireu-Mourat, B.: Progress in Neurobiol., 58, 61 (1999)  
 4) 山田清文: 日本薬理学雑誌, 111, 87 (1988)  
 5) Bohne, G.A., Bon, C., Stutzmann, J.M., Doble, A. and Blanchard, J.C. : Eur. J. Pharmacol., 199, 379 (1991)  
 6) O'Dell, Hawkins, R.D., Kandel, E.R.,

and Arancio, O. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 11285 (1991)  
 7) Schuman, E.M. and Madison, D.V. : Science, 254, 1503 (1991)  
 8) O'Dell, Haug, P.L., Dawson, T.M., Dinerman, J.L., Snyder, S.H., Kandel, E.R. and Fishman, M.C. : Science, 265, 542 (1994)  
 9) Son, H., Hawkins R.D., Martin, K., Kiebler, M., Huang, P.L., Fishman, M.C. and Kandel, E.R. : Cell, 87, 1015 (1996)  
 10) Boulton, C.L., Southam, E. and Garthwaite, J. : Neuroscience, 69, 699 (1995)  
 11) Zhou, M., Hu, Y., Schultz, C., Kandel,

E.R. and Hawkins, R.D. : Nature, 368, 635, (1994)  
 12) Son, H., Lu, Y. -F., Zhou, M., Arancio, O., Kandel, E.R. and Hawkins, R.D. : Learning and Memory, 5, 231 (1998)  
 13) Peunova, N. and Enkolepov, G., : Nature, 364, 450 (1995)  
 14) Haby, C., Lisovoski, F., Aunis, D. and Zwiller, J. : J. Neurochem., 62, 496 (1996)  
 15) Fyske, E.M., Li, C. and Sudhof, T.C. : J. Neurosci., 15, 2385 (1995)

NOによる立体構造変化を認識できる sGC 抗体

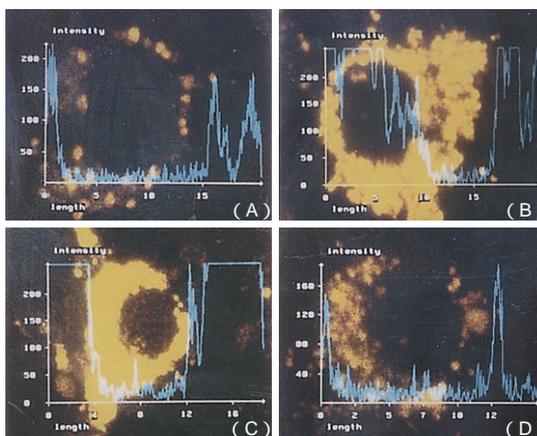
免疫化学用

血管内皮由来弛緩因子 (EDRF) の本体である事が見出された NO (nitric oxide) の生理作用は多様多岐に渡る事が知られています。その作用標的分子として知られている sGC (可溶性グアニル酸シクラーゼ) は、NO が sGC のへムに結合すると立体構造が変わり、酵素活性が 100 倍以上に増強され、cGMP の合成を促進します。その結果生じた cGMP が、血管系では血管弛緩をもたらす、神経系では逆行性の神経情報を伝達し、また脳虚血時の神経細胞死を引き起こすことが示唆されています。このように、NO により活性化され、cGMP の産生を促進する sGC の局在及び作用機序を知ることは生理機能や疾患の病因の解明に必須であると考えられます。

mAB3221 抗体は、NO により活性化された sGC を強く認識するものであり、NO 研究伸展の手段としてご利用下さい。また、mAB28131 抗体は NO による sGC の立体構造変化を認識しないため、NO 活性化のネガティブコントロールとして使用できます。

〔参考文献〕

1) Tsuyama, S. et al., : FEBS Lett., 455, 291 (1999)  
 2) Suemastu, et al., in preparation.



SNAP 添加後のプルキンエ細胞における sGC の免疫蛍光強度の変化

SNAP (10 μmol/l) を各時間反応させた後、細胞をホルムアルデヒドで固定した。一次抗体として抗 sGC モノクローナル抗体を反応させ、ローダミン標識二次抗体で処理した。グラフの X 軸は細胞の縁からの距離を、Y 軸は蛍光強度を示す。  
 (A) 0min (B) 15min (C) 30min (D) 60min

Anti-soluble Guanylate Cyclase (sGC), Monoclonal Antibody

免疫原: ウシ肺由来の精製 sGC  
 形状: 0.1mol/l Glycine-Tris (pH 7.4)  
 濃度: 500 μg/ml  
 精製法: 硫酸分画及びプロテイン A アフィニティクロマトグラフィにて精製  
 クローン: mAB3221  
 サブクラス: IgG<sub>1</sub>  
 特異性: sGC と特異的に反応するだけでなく、NO による sGC の立体構造変化により抗原

抗体反応が増強する。sGC の α と β サブユニットの両方を認識する。膜結合型の GC とは反応しない。  
 種交叉反応性: ラット、ウシ、ヒトと反応する。  
 実用希釈倍数: ウエスタンブロット 1 : 5,000 (ALP による検出)  
 蛍光抗体法 1 : 250  
 019-17801 20 μg 30,000 円

Anti-soluble Guanylate Cyclase (sGC), Monoclonal Antibody (NO insensitive)

免疫原: ウシ肺由来の精製 sGC  
 形状: 0.1mol/l Glycine-Tris (pH 7.4)  
 濃度: 500 μg/ml  
 精製法: 硫酸分画及びプロテイン A アフィニティクロマトグラフィにて精製  
 クローン: mAB28131  
 サブクラス: IgG<sub>1</sub>  
 特異性: sGC β サブユニットと特異

的に反応し、膜結合型の GC とは反応しない。NO による sGC の立体構造変化により抗原抗体反応が増強しない。  
 種交叉反応性: ラット、ウシ、ヒトと反応する。  
 実用希釈倍数: ウエスタンブロット 1 : 5,000  
 蛍光抗体法 1 : 250  
 017-18201 20 μg 30,000 円



## 遺伝子発現モニタリングシステム

### GTMASS SYSTEM - Gene Tip Micro Array Stamping & Scanner -

日本レーザ電子株式会社の DNA マイクロアレイ作成装置及びスキャナーの販売を開始しました。

〔特長〕

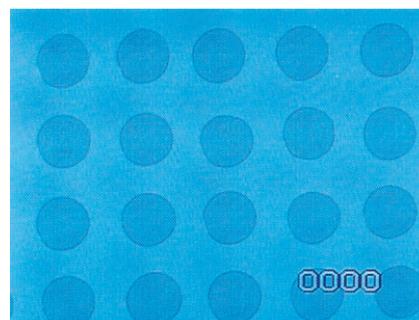
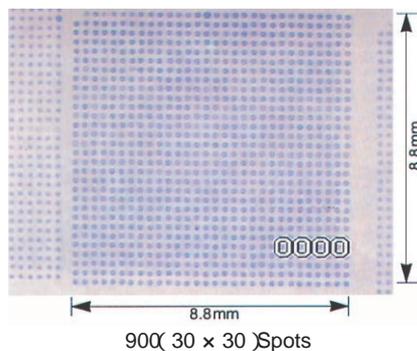
#### Gene Tip Stamping

- PCR プレート (96well または 384well) から直接あるいは MTP プレートから、スライドガラスまたはメンブレン上に Stamping
- スライドガラスへの Stamping 数 720 ~ 43,200Spots
- Stamping 分注量 0.2 ~ 5.0 nl

#### Gene Tip Scanner

- 高エネルギーレーザー光による蛍光物質励起
- 2 光電子増倍管 (PMT) による高感度検出
- 2 蛍光同時取込み
- 最大 3 蛍光まで可能

〔Stamping 例〕



コード No.	メーカーコード	品名	包装
302-07471	NL-GTMASS-ST	GTMASS SYSTEM/Stamping	1 台
305-07461	NL-GTMASS-SC	GTMASS SYSTEM/Scanner	1 台



## 表面プラズモン共鳴バイオセンサ

### SPR670 SPR-CELLIA

SPR670 は、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance) 現象を応用し、共鳴角度変化をリアルタイムでとらえることにより、ノンラベルで生体分子間の反応・結合量の測定及び速度論的解析ができる装置です。

SPR-CELLIA は、さらに細胞・菌体用の太径流路を装備したタイプで、生細胞レセプターアッセイ、生細胞のリアルタイム誘導率モニター、レセプターの種別による細胞分集が可能です。

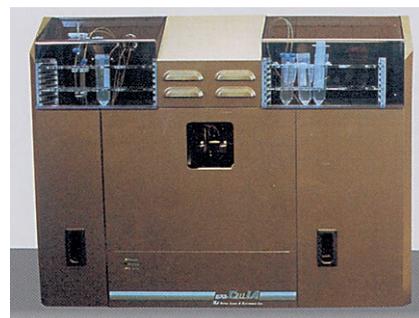
〔SPR670 と SPR-CELLIA の共通な特長〕

- 分子間の相互作用をラベリングなしで測定可能
- 反応の強度、速度、解離の状態をリアルタイムにモニタリング
- 反応の速度定数、解離定数の算出が可能
- 有機溶媒も使用可能 (疎水性サンプルの測定が可能)

- 濃度のキャリブレーション (検量線の作成) も可能
- リファレンスを同時にモニタリングし、真の反応量を検出することが可能 (差動センサシステム)
- 分子配列の整った固定化膜を用いるため、優れた感度、再現性
- 温度を 4 ~ 95 まで可変可能 (バッチタイプ以外は標準装備)
- ワイドレンジ (共鳴角 50 幅) であるため、多種の溶媒が使用可能
- オートサンプラーをオプション装備可能

〔SPR-CELLIA の特長〕

- 太径と細径の流路を測定中に切り替え可能
- サンプル回収用バルブを標準装備



SPR-CELLIA

〔アプリケーション〕

- 生細胞固定化によるレセプター・リガンドアッセイ・生細胞のリアルタイム誘導率変化モニター
- ハイブリダイゼーション
- 免疫応答
- 生体膜を利用した新薬評価
- 低分子化合物のバインディングアッセイ
- 環境ホルモンの測定
- カイネテックス、アフィニティーの測定・解析

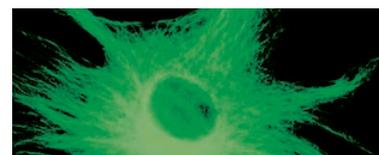
コード No.	メーカーコード	品名	包装
307-07541	NL-SPR670-Y	SPR670 / 標準タイプ Y	1 台
308-07191	NL-SPR670-E	SPR670 / バッチタイプ E	1 台
304-07551	NL-SPR670-ES	SPR670 / バッチタイプ ES (2 チャンネル簡易フロー付)	1 台
303-07141	NL-SPR-	SPR-CELLIA	1 台
301-07201	NL-SPR670-PC	コンピュータシステム	1 台
301-07681	NL-UV253	UV オゾンクリーナ	1 台



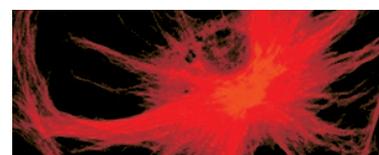
## Alexa Fluor 標識抗体及び関連試薬



Alexa Fluor 350 goat anti-mouse IgG



Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG



Alexa Fluor 594 goat anti-mouse IgG

### Alexa Fluor 標識二次抗体

蛍光強度が強く、光安定性が良い Alexa Fluor 蛍光色素で標識した抗 IgG 抗体です。蛍光顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡での Alexa Fluor 標識二次抗体は理想的な標識抗体です。蛍光色は青から赤まで7種類あります。Alexa Fluor 蛍光色素は水溶性なため、FITC と比べてバックグラウンドは低くなります。

Molecular Probes 社のホームページ ( <http://www.probes.com> ) でメーカーコードから製品のデータシートを入手できます。

和光コード No.  
メーカーコード  
希望納入価格 (円)

Antibody	免疫動物	容量	Alexa Fluor 350	Alexa Fluor 430	Alexa Fluor 488	Alexa Fluor 532	Alexa Fluor 546	Alexa Fluor 568	Alexa Fluor 594
			Abs/Em 346/442	Abs/Em 431/541	Abs/Em 495/519	Abs/Em 531/554	Abs/Em 556/573	Abs/Em 578/603	Abs/Em 590/617
<b>Anti-mouse IgG</b> Adsorbed against human IgG and serum.	Goat	0.5ml	529-44401 A-11045 29,100	527-44441 A-11063 29,100	539-82041 A-11001 29,100	521-44461 A-11002 29,100	537-81981 A-11003 29,100	525-44481 A-11004 29,100	536-81691 A-11005 29,100
<b>Anti-mouse IgG F(ab')<sub>2</sub></b> Adsorbed against human IgG and serum.	Goat	250µl	526-44411 A-11068 21,700		534-81991 A-11017 21,700		531-82001 A-11018 21,700	522-44491 A-11019 21,700	529-32291 A-11020 21,700
<b>Anti-mouse IgG (highly cross-adsorbed)</b> Adsorbed against bovine, human, goat, rabbit and rat IgG, and human serum.	Goat	0.5ml			530-81971 A-11029 36,800		533-81961 A-11030 36,800	525-44501 A-11031 36,800	529-44261 A-11032 36,800
<b>Anti-mouse IgG</b> Adsorbed against human serum proteins.	Rabbit	0.5ml			528-32261 A-11059 29,100		525-44361 A-11060 29,100	522-44511 A-11061 29,100	521-32251 A-11062 29,100
<b>Anti-rabbit IgG</b> Adsorbed against human IgG and serum, mouse IgG and serum and bovine serum.	Goat	0.5ml	523-44421 A-11046 29,100	524-44451 A-11064 29,100	532-81671 A-11008 29,100	528-44471 A-11009 29,100	535-82021 A-11010 29,100	529-44521 A-11011 29,100	525-32271 A-11012 29,100
<b>Anti-rabbit IgG F(ab')<sub>2</sub></b> Adsorbed against human serum.	Goat	250µl	520-44431 A-11069 21,700		528-44231 A-11070 21,700		522-44371 A-11071 21,700		526-44271 A-11072 21,700
<b>Anti-rabbit IgG (highly cross-adsorbed)</b> Adsorbed against human, mouse, bovine, goat and rat IgG, and human, mouse and bovine sera.	Goat	0.5ml			536-81951 A-11034 36,800		539-81941 A-11035 36,800	526-44531 A-11036 36,800	523-44281 A-11037 36,800
<b>Anti-guinea pig IgG (highly cross-adsorbed)</b> Adsorbed against bovine, chicken, goat, hamster, human, mouse, rabbit, rat and sheep sera.	Goat	0.5ml			525-44241 A-11073 36,800		529-44381 A-11074 36,800	523-44541 A-11075 36,800	520-44291 A-11076 36,800
<b>Anti-goat IgG</b> Adsorbed against rabbit, mouse, rat and human IgG.	Donkey	0.5ml			521-32871 A-11055 34,000		526-44391 A-11057 34,000	520-44551 A-11058 34,000	523-44301 A-11058 34,000
<b>Anti-goat IgG</b> Adsorbed against human and rat serum proteins.	Rabbit	0.5ml			522-44251 A-11078 29,100			527-44561 A-11079 29,100	520-44311 A-11080 29,100
<b>Anti-rat IgG</b> Adsorbed against mouse IgG and serum.	Goat	0.5ml			538-82011 A-11006 29,100			524-44571 A-11077 29,100	527-44321 A-11007 29,100
<b>Anti-human IgG</b> Adsorbed against mouse, rabbit and bovine sera.	Goat	0.5ml			532-82031 A-11013 29,100				524-44331 A-11014 29,100
<b>Anti-sheep IgG</b> Adsorbed against mouse, rabbit and bovine sera.	Donkey	0.5ml			522-32281 A-11015 29,100				521-44341 A-11016 29,100
<b>Anti-chicken IgG</b>	Goat	0.5ml			532-81931 A-11039 29,100		535-81921 A-11040 29,100	521-44581 A-11041 29,100	528-44351 A-11042 29,100

### Alexa Fluor Protein Labeling Kits

Alexa Fluor succinimidyl ester で簡単にタンパク質を標識するキットです。

Protein Labeling Kit	Abs	Em	メーカーコード	容量	希望納入価格 (円)
Alexa Fluor 350	346	442	A-10170	1 キット	45,300
Alexa Fluor 430	434	540	A-10171	1 キット	45,300
Alexa Fluor 488	495	519	A-10235	1 キット	65,200
Alexa Fluor 532	531	554	A-10236	1 キット	65,200
Alexa Fluor 546	556	573	A-10237	1 キット	65,200
Alexa Fluor 568	578	603	A-10238	1 キット	65,200
Alexa Fluor 594	590	617	A-10239	1 キット	65,200

### Alexa Fluor Cytoskeleton Probes

標識	容量	Alexa Fluor 488	Alexa Fluor 568	Alexa Fluor 594
Phalloidin	300units	A-12379 70,900	A-12380 70,900	A-12381 70,900
DNase I	5mg	D-12371 48,200		D-12372 48,200
actin	20µg	A-12373 35,400	A-12374 35,400	

Approximate absorption (Abs) and fluorescence emission (Em) maxima of protein conjugates, in nm.

## ペルオキシダ-ゼ発色基質

### OPD 錠、DAB 錠 品揃え拡充!

ご好評頂いております POD(ペルオキシダーゼ)の発色基質である OPD(*o*-Phenylenediamine · 2HCl)と DAB(3,3'-Diaminobenzidine · 4HCl)の錠剤の種類が増えました。

#### 〔特長〕

- 溶解が速い
- 緩衝液または水に約 1 分で発泡しながら溶解します。
- 取出し易い
- PTP 包装のため、ワンタッチで取出せます。
- 長期保存が可能
- 使用期間 2 年間
- 取扱い易い
- 微量秤取や発がん性により粉末では取扱い難い OPD · 2HCl や DAB · 4HCl を錠剤にすることにより取扱い易くしました。



PTP 包装された OPD 2mg/錠

#### OPD 錠

##### 〔規格〕

	一錠重量	含量
2mg/錠	63 ± 6.3mg	2.0 ± 0.2mg
5mg/錠	63 ± 6.3mg	5.0 ± 0.5mg
10mg/錠	63 ± 6.3mg	10 ± 1.0mg
13mg/錠	63 ± 6.3mg	13 ± 1mg
30mg/錠	63 ± 6.3mg	30 ± 3.0mg

##### 〔使用例〕

< 基質緩衝液の調製 > 至適濃度は個々の試験条件により選定下さい。

錠剤	緩衝液	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
2mg/錠 × 1錠	5ml	2μl
5mg/錠 × 1錠	12.5ml	5μl
10mg/錠 × 1錠	25ml	10μl
13mg/錠 × 1錠	50ml	15μl
30mg/錠 × 1錠	75ml	30μl

緩衝液： 0.1M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0)  
0.05M リン酸くえん酸緩衝液 (pH 5.0) 等

#### DAB 錠

##### 〔規格〕

	一錠重量	含量
5mg/錠	80 ± 8.0mg	5.0 ± 0.5mg
10mg/錠	80 ± 8.0mg	10 ± 1mg

##### 〔使用例〕

< 発色反応液の調製 > 至適濃度は個々の試験条件により選定下さい。

錠剤	緩衝液	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
5mg/錠 × 1錠	25ml	5μl
10mg/錠 × 1錠	50ml	10μl

緩衝液： 0.05M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.6)

( 208-14691 1ℓ 4,000 円 )  
( 206-14697 20ℓ 14,000 円 )

	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW	151-02141	OPD 2mg/錠	生化学用	50T	5,500
NEW	157-02143			100T	9,000
NEW	158-02151	OPD 5mg/錠	生化学用	50T	5,600
NEW	154-02153			100T	9,200
NEW	155-02161	OPD 10mg/錠	生化学用	50T	5,600
NEW	151-02163			100T	9,200
	158-01671			2,000T	130,000
	154-01673	OPD 13mg/錠	生化学用	50T	6,000
	152-01674			100T	9,800
	152-02171	OPD 30mg/錠	生化学用	50T	6,000
	158-02173			100T	9,800
NEW	040-27001	DAB 5mg/錠	生化学用	50T	9,000
NEW	046-27003			100T	16,000
NEW	049-22831	DAB 10mg/錠	生化学用	50T	9,500
NEW	045-22833			100T	16,500

上記錠剤価格は 11 月 1 日適用価格となっております。



静置したまま発泡溶解します

## Ribonuclease Mix Solution

遺伝子研究用

Ribonuclease A (ウシ膵臓製)と Ribonuclease T1 (*Aspergillus oryzae* 由来の遺伝子を大腸菌にて発現させた組換え体)の混合溶液です。制限酵素処理前または処理時の RNA 処理に有用です。

形状: 10mmol/l HEPES (pH 7.2)  
20mmol/l NaCl, 0.1%  
Triton X-100, 1mmol/l  
EDTA, 50% グリセロール  
(v/v)

活性(濃度):  
Ribonuclease A  
500 units/ml 以上  
Ribonuclease T1  
20,000 units/ml 以上

貯法: -20

549-00921 1ml 8,500 円

## Deoxyribonuclease

遺伝子研究用

1本鎖及び2本鎖のDNAを同程度にランダムに分解し、5'-P末端を持つオリゴヌクレオチドを生成させるエンドヌクレアーゼです。Mg存在下では2本鎖にランダムにニックを入れるが、Mn存在下では2本鎖の同時切断が起こりDNAを断片化させます。

### Deoxyribonuclease , Bovine Pancreas

起源: ウシ膵臓製

形状: 凍結乾燥品

活性: 2,000 units/vial 以上

単位の定義: DNAを基質として、pH 5.0、25°Cにおいて、反応液の260nmにおける吸光度を1分間に0.001増加させる酵素量を1unitとする。

044-26781 2,000 units 4,400 円  
040-26783 2,000 units × 5 11,000 円

### Deoxyribonuclease , Bovine Pancreas Precrystalline

起源: ウシ膵臓製

形状: 凍結乾燥品

活性: 1,400 units/mg 以上

単位の定義: DNAを基質として、pH 5.0、25°Cにおいて、反応液の260nmにおける吸光度を1分間に0.001増加させる酵素量を1unitとする。

047-26771 25mg 9,000 円  
043-26773 100mg 19,000 円

## 新規エキソヌクレアーゼ

### Exonuclease , recombinant

遺伝子研究用

本酵素は、1本鎖DNAにおいて、3'-5'エキソヌクレアーゼ活性を持つと同時に3'-incised apurinic/aprimidinic (AP) siteを含むDNA上で3'-Phosphodiesterase活性を持ちます。また、5'-incised AP site上では、Deoxyribosephosphodiesterase活性を示さない性質を持ちます。

起源: *Escherichia coli* より単離したエキソヌクレアーゼ遺伝子をプラスミドに組み込み *Escherichia coli* JM 109 中で発現

比活性: 2,000 units/mg 以上

活性の定義: 熱変性DNAを基質として、37°C、30分間に、1nmolの酸可溶性核酸を遊離させる酵素量を1unitとする。

形状: 50mmol/l Tris-HCl,

1mmol/l DTT, 1mmol/l Na<sub>2</sub>EDTA, 250mmol/l NaCl, 50% グリセロール, (pH 7.6)

貯法: -20

[参考文献]

1) Shafritz, K. M., Sandigursky, M. and Franklin, W. A.: *Nucleic Acids Res.*, 26, 2593 (1998)

546-00931 5,000 units 照会

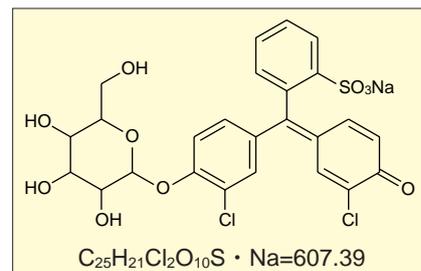
### Chlorophenol Red-β-D-galactopyranoside Sodium Salt

生化学用

β-ガラクトシダーゼ用の赤色基質です。

[規格]

Assay (HPLC) .....min. 99.0%  
Solubility in water .....to pass test



035-17501 100mg 6,500 円  
031-17503 500mg 26,000 円

## ハイブリダイゼーション用 DNA Solution

**Deoxyribonucleic Acid Solution, from Calf Thymus ( Phenol-Chloroform extracted )**  
**Deoxyribonucleic Acid Solution, from Salmon Sperm ( Phenol-Chloroform extracted )**  
**Deoxyribonucleic Acid Solution, from Herring Sperm ( Phenol-Chloroform extracted )**

遺伝子研究用

本品は、ウシ胸腺・サケ精子・ニシン精子由来の DNA を高純度のフェノール-クロロホルムで抽出し、超音波処理を行った物です。ハイブリダイ

ゼーション用に有効です。

形状：DEPC 処理済み、蒸留水  
 濃度：10mg/ml  
 DNA サイズ：平均 2,000bp 以下  
 貯法：-20

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
047-27511	10mg/ml Deoxyribonucleic Acid Solution, from Calf Thymus	1ml	7,500
043-27513	( Phenol-Chloroform extracted )	1ml × 5 本	25,000
041-27531	10mg/ml Deoxyribonucleic Acid Solution, from Salmon Sperm	1ml	4,500
047-27533	( Phenol-Chloroform extracted )	1ml × 5 本	13,000
044-27521	10mg/ml Deoxyribonucleic Acid Solution, from Herring Sperm	1ml	4,500
040-27523	( Phenol-Chloroform extracted )	1ml × 5 本	13,000

## Deoxyribonucleic Acid Solution, from Salmon Testes ( Heat Denaturation )

遺伝子研究用

本品は、サケ精巣を破砕処理により抽出した DNA を、熱変性させ 1 本鎖にした物です。ハイブリダイゼーション用に有効です。

使用前に、本品を簡単に煮沸し、直ちに冷蔵してから使用下さい。

DNA サイズ：200bp~1,000bp  
 貯法：-20

形状：0.1M NaCl 溶液  
 濃度：5mg/ml

049-27191 10ml 照会



## 転写開始点、プロモーター、翻訳開始点などの決定に

### カスタム CapSite™ Hunting

ニッポンジーンでは、真核生物 mRNA の 5' 末端に特長的に存在するキャップ構造を、合成オリゴリボヌクレオチドで置換した後、ランダムプライマーを用いて、逆転写反応を行って得た第一鎖 cDNA ライブラリーを、Cap Site cDNA® として製品化しています。Cap Site cDNA® はこれを鋳型として PCR を行うことによって、高い効率で転写開始点を含む領域を得ることができます。この方法によって転写開始点を決定することを CapSite™ Hunting と呼びます。カスタム CapSite™ Technology では、お客様のご要望に応じて、次のような受託サービスを行います。

#### 1. カスタム Cap Site cDNA® 合成

ご提供された total RNA、あるいは poly(A) RNA から Cap Site cDNA® を作製します(納期 約 1 カ月)

#### 2. カスタム CapSite™ Hunting

(1) お客様よりご提供いただいた RNA より Cap Site cDNA® を合成し、ご開示いただいた配列情報をもとに合成したプライマーを用いて、CapSite™ Hunting を行います(納期 約 1 カ月)

(2) ニッポンジーン保有の Cap Site cDNA® を鋳型として、ご開示いただいた配列情報をもとに合成したプライマーを用いて、CapSite™ Hunting を行います(納期 約 2 週間)

転写開始点、プロモーター、翻訳開始点などの決定に取組んでおられる研究者は、是非お問い合わせ下さい。事前調査票にご記入の上、ご送付いただければお見積します。

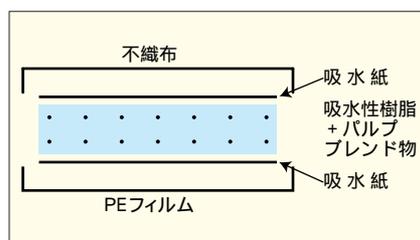
## 優れた吸水力！

### ラボシート™

動物実験や解剖時にできる血液や体液などを吸収させるシートで、実験動物の下敷きや摘出した組織の処理台など多目的にご利用頂けます。

#### 〔シート構造〕

30cm × 40cm の大きさで、高吸水性ポリマーを吸着させた特殊シートをさらに不織布（表側）ポリエチレンフィルム（裏側）で挟み周囲全体をヒートシール加工しています。



#### 〔特長〕

高い吸水能力：シート1枚（30cm × 40cm）あたり約 800ml の水を吸収します。

\* 対象が血液や体液の場合は吸収能力は多少低下します \*

吸水後もシートが水分を保持しますので液体が広がらず実験台を汚しません。シートの裏面はポリエチレンフィルムになっており、清潔・安全です。シート表面の毛羽立ち・発塵の心配はありません。

適度の厚さがありますのでガラス製実験器具などの下敷きにも使用できます。

#### 〔使用後の処理〕

\* 水を吸水させたもの

普通ゴミとして焼却して下さい。

\* 実験動物の血液・体液等を吸収させたもの

各大学・研究施設の処理方法に従って下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
121-04701	Labsheet™	実験動物体廃液吸収用	10枚	1,900
127-04703			10枚×10袋	15,000



## マウス poly(A)<sup>+</sup> RNA

### Custom Northern Blotting Membrane

カスタムノーザンブロットングメンブレンは、マウス(BALB/c, 8週齢)各組織より抽出した高純度の poly(A)<sup>+</sup> RNA を、変性アガロースゲルで電気泳動し、陽性荷電ナイロンメンブレンにキャピラリー法でトランスファーしたものです。ノーザンハイブリダイゼーション用で、全10種類(Brain, Cerebellum, Cerebrum, Heart, Kidney, Liver, Lung, Spleen, Thymus, Testis)からご希望の組織の poly(A)<sup>+</sup> RNA を最大で10レーン分まで選ぶことができます(同一種類複数可)。同時に泳動している RNA marker のバンドの位置とマウス Liver 由来の total RNA の 18S と 28S rRNA の位置は、マーカーで印してあるためサイズ検討が容易に行えます。

#### 〔内容〕

・ Northern Blotting Membrane 1枚

poly(A)<sup>+</sup> RNA 2μg/レーン

RNA marker (0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 10 kbase)

total RNA (Liver 由来) 5μg

007-04030 3レーンまで 102,000円

・ コントロールプローブ調製用プラスミド(マウス β-actin) 15μl (3μg) (凍結乾燥品)

\* 1レーン増えるごとに12,000円加算されます(最大7レーンまで追加できます)。

・ マニュアル

## アクチン脱重合物質 サイトカラシン

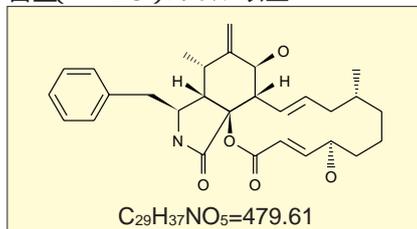
サイトカラシンは、よく知られたアクチン重合阻害剤で、F-アクチンに結合して、G-アクチンが結合するのを阻害するキャッピング機能によりF-アクチンの脱重合を促進します。その結果、核分裂のみを進行させ、細胞質分裂を阻害します。細胞運動、白血球食作用、血小板凝集などが阻害されます。

〔規格〕

### Cytochalasin B

起源: *Drechslera dematoidea*

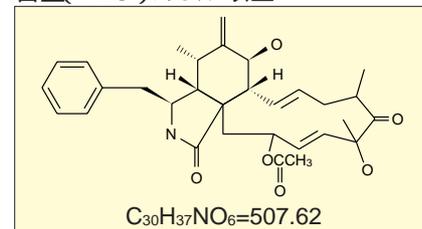
含量(HPLC): 98% 以上



### Cytochalasin D

起源: *Zygosporium mansonii*

含量(TLC): 95% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
030-17551	Cytochalasin B	生化学用	1mg	4,300
036-17553			5mg	12,000
034-17554			10mg	23,000
037-17561	Cytochalasin D	生化学用	1mg	10,000
033-17563			10mg	62,000

## 海洋生物生理活性物質

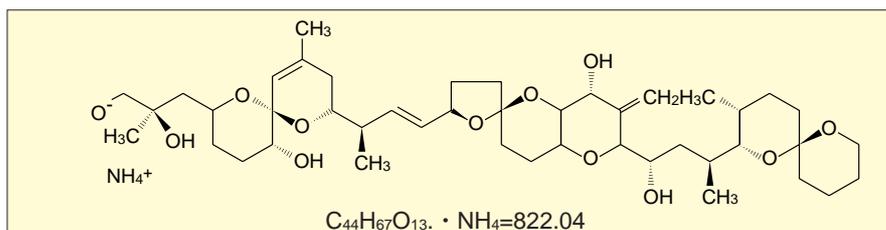
### Okadaic Acid Ammonium Salt

生化学用

オカダ酸はクロイソカイメン (*Halicchondria okadai*) より単離された下痢性貝毒の原因物質です。生理活性作用としてプロテインホスファターゼ 1 及び 2A の特異的な阻害剤として有名です。その他にも non-TPA タイププロモーター活性、カルシウム除去液中での平滑筋の収縮などの生理活性作用が報告されています。本品はアンモニウム塩のため、水に溶け易く取扱いが容易です。

〔規格〕

水溶状: 試験適合



〔参考文献〕

- 1) Tachibana, K. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 2469 (1981)
- 2) Suganuma, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 85, 1768 (1988)

3) Ozaki, H. *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 243, 1167 (1987)

156-02211	100 $\mu$ g	20,000 円
152-02213	500 $\mu$ g	75,000 円

〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
150-01653	Okadaic Acid	生化学用	25 $\mu$ g	10,500
154-01651			100 $\mu$ g	30,000
032-14451	Calyculin A	生化学用	100 $\mu$ g	30,000
161-15131	Palytoxin	生化学用	100 $\mu$ g	30,000
206-11071	Tetrodotoxin	生化学用	1mg	21,000
131-10471	Manoalide	生化学用	1mg	30,000

## Coenzyme A 脂肪族誘導体

アセチルコエンザイム A のナトリウム塩を新発売しました。アセチルコエンザイム A は、コエンザイム A の SH 基にアセチル基が高エネルギー結合しており、アセチル基転移反応の基質として働く補酵素です。アセチルコ

エンザイム A は、多くの生物にとって最も重要な代謝中間体であり、アセチルコリン、アセチルグルコサミンの生成、脂肪酸の生合成、くえん酸の生成など種々の反応に関与しています。

S- パルミトイルコエンザイム A は、

アセチルコエンザイム A カルボキシルラーゼを阻害し、脂肪酸合成に必要なマロニルコエンザイム A の合成を抑制します。

〔右へ続く〕

## マイクロプレートリーダーを用いた多検体測定に有効 O<sub>2</sub>・による還元反応を利用した簡易キット

### SOD Activity Detection Kit( NBT 還元法 )

スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)は、活性酸素の1つであるスーパーオキシドアニオン(O<sub>2</sub>・)を基質として、2O<sub>2</sub>・ + 2H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>の反応を触媒する酵素として1969年にFridovichらにより発見されました。現在までに分離されたSODは、その分子中に含まれる金属によって3種類に分けられています。

最近、皮膚の老化の促進や、がん化の原因として活性酸素の関与を示唆する結果が多く報告され、この活性酸素消去剤であるSOD活性を持つ物質(抗酸化物質)が、化粧品の原料や食品の開発等で注目されています。

SOD活性の測定法としては、チトクロームC還元法、亜硝酸法、テトラゾリウム塩還元法等の化学的測定法がありますが、操作性及び試薬の安定性等に問題がありました。

本品は、O<sub>2</sub>・の検出剤として、NO<sub>2</sub>-TB(ニトロブルーテトラゾリウム)を用い、O<sub>2</sub>・の生成反応(キサンチン・キサンチンオキシダーゼ)とSODによる不均化反応とを共役させ、O<sub>2</sub>・による還元呈色が低下する程度を阻害率として求める簡便なSOD活性測定キットです。

#### 〔内容〕

発色試液	100ml	2本
酵素原液	50ml用	2本
酵素希釈液	50ml	2本
ブランク液	100ml	1本
反応停止液	40ml	1本

#### 〔参考文献〕

- 1)花田寿郎, 茂手木皓喜: 臨床検査機器, 試薬, 8, 629(1985)
- 2)McCord, J. M. and Fridovich, L.: *J. Biol. Chem.*, 244, 6049 (1969)
- 3)Masaki, H.: *FRAGRANCE JOURNAL*, 8, 65(1995)

#### 〔操作法〕

96穴プレート	サンプル(10μl/well)
	発色試液(100μl/well)
プレートミキサー 1min 攪拌	酵素液またはブランク液(100μl/well)
プレートミキサー 1min 攪拌	
インキュベーター 37℃ 28min	反応停止液(20μl/well)
プレートミキサー 5min 攪拌	
マイクロプレートリーダー (560nm)	

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
295-55701	SOD Activity Detection Kit	生化学用	800回用	23,000

#### 〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
192-11281	スーパーオキシドジスムターゼ, ヒト, 組換え体	生化学用	4,500 units	4,500
190-08771	スーパーオキシドジスムターゼ, 牛赤血球製	生化学用	35,000 units	7,300

\* プレートリーダーについては、TECAN社の商品を取扱っておりますので資料をご請求下さい。

### Acetyl Coenzyme A Sodium Salt

生化学用

形状: 凍結乾燥品	015-17381	10mg	8,000円
緩衝液溶状: 試験適合	011-17383	25mg	16,000円
含量(吸光度): 80%以上	019-17384	100mg	52,000円

### S-Palmitoyl Coenzyme A

Potassium Salt

生化学用

形状: 凍結乾燥品	162-18841	10mg	22,000円
緩衝液溶状: 試験適合			

#### 〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-10811	Acetyl Coenzyme A Trilithium Salt	生化学用	10mg	6,800
014-10813			100mg	40,000
035-14061	Coenzyme A Trisodium Salt	生化学用	25mg	2,600
031-14063			100mg	7,500
039-14064			500mg	20,400

## ラットケモカイン ELISA キット

### Rat CINC-1 ELISA Kit wako

CINC-1 測定用

CINC (Cytokine-induced neutrophil chemoattractant) は、IL-1 などで刺激されたラット腎上皮細胞や正常ラット上皮細胞株 NRK-52E から産生される CXC ケモカインです。IL-8 ファミリーに属す CINC は、好中球からの走化性因子として働き、種々の炎症性疾患に関与すると考えられています。

〔キット内容〕

(1)抗体固定化マイクロプレート	1枚
(2)ラット CINC-1 標準品 (1,600pg/ml)	2ml 用
(3)サンプル希釈液	40ml
(4)HRP 標識抗体	12ml 用
(5)発色液 (TMBz)	0.5ml
(6)基質液	20ml
(7)洗浄液 (10 ×)	40ml
(8)反応停止液	15ml

297-55401 96 回用 80,000 円

### Rat MIP-2 ELISA Kit wako

MIP-2 測定用

MIP-2 (Macrophage inflammatory protein-2) は、73 アミノ酸からなる分子量 7,900 の CXC ケモカインです。IL-8 ファミリーに属し、CINC-3 (Cytokine-induced neutrophil chemoattractant-3) とも呼ばれており、好中球の走化性因子として働き、種々の炎症性疾患に関与すると考えられています。

〔キット内容〕

(1)抗体固定化マイクロプレート	1枚
(2)ラット MIP-2 標準品 (800pg/ml)	2ml 用
(3)サンプル希釈液	40ml
(4)HRP 標識抗体	12ml 用
(5)発色液 (TMBz)	0.5ml
(6)基質液	20ml
(7)洗浄液 (10 ×)	40ml
(8)反応停止液	15ml

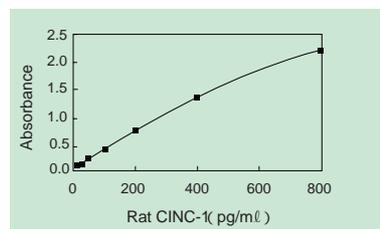
293-55501 96 回用 75,000 円

〔関連商品〕

コード No.	品名	包装	希望納入価格(円)
297-53701	Rat IL-1 $\beta$ ELISA Kit wako	96 回用	70,000
291-54201	Rat IL-2 ELISA Kit wako	96 回用	70,000
293-53801	Rat IL-4 ELISA Kit wako	96 回用	70,000
299-53901	Rat IL-6 ELISA Kit wako	96 回用	70,000

〔性能〕

(1)感度 標準曲線範囲 12.5-800pg/ml



(2)交叉反応性

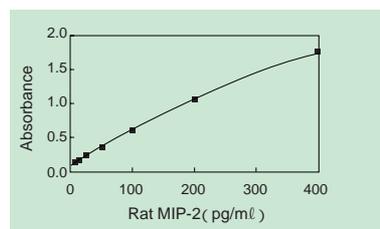
ラット CINC-2 $\alpha$ 、CINC-2 $\beta$  及び MIP-2 との交差反応性は 0.002% 未満です。

(3)添加回収

	4 倍希釈	8 倍希釈
ヘパリン加血漿	90 ~ 113%	103 ~ 117%
EDTA 加血漿	98 ~ 115%	99 ~ 142%
くえん酸ナトリウム加血漿	83 ~ 99%	75 ~ 97%
血清	92 ~ 125%	94 ~ 103%
	原液	2 倍希釈
10%FCS 含有 DMEM 培養上清	99 ~ 114%	99 ~ 100%

〔性能〕

(1)感度 標準曲線範囲 6.25-400pg/ml



(2)交叉反応性

ラット CINC-1、CINC-2 $\alpha$ 、CINC-2 $\beta$  との交差反応性は 0.001% 未満です。

(3)添加回収

	4 倍希釈	8 倍希釈
ヘパリン加血漿	64 ~ 77%	82 ~ 93%
EDTA 加血漿	85 ~ 111%	88 ~ 99%
くえん酸ナトリウム加血漿	67 ~ 91%	95 ~ 96%
血清	74 ~ 86%	88 ~ 94%
	原液	2 倍希釈
10%FCS 含有 DMEM 培養上清	111 ~ 114%	95 ~ 100%

コード No.	品名	包装	希望納入価格(円)
299-54001	Rat IL-10 ELISA Kit wako	96 回用	70,000
293-53301	Rat TNF- $\alpha$ ELISA Kit wako	96 回用	70,000
295-54101	Rat IFN- $\gamma$ ELISA Kit wako	96 回用	70,000

## TGF- $\beta$ スーパーファミリー

### Activin A, AB, B from Porcine Ovarium

生化学用

TGF- $\beta$  スーパーファミリーの3大ファミリーの一つであるアクチピンは、インヒピンの精製過程で偶然に発見された、脳下垂体前葉で産出される性腺刺激ホルモンの一つです。インヒピンとは正反対の活性、すなわち卵胞刺激ホルモン (FSH) 分泌促進活性をもつタンパク質である事がわかりました。アクチピンの発見当初は前述のようにホルモン様因子として位置づけられてきましたが、最近では造血、神経細胞増殖、発生、骨形成などを含むいろいろな生理活性を持つ多機能分子としての知見が明らかにされています。アクチピンの多くの作用の中でも特に初期胚における中胚葉誘導作用は注目を浴びています。

アクチピンにはAアイソフォーム ( $\beta A/\beta A$ )、ABアイソフォーム ( $\beta A/\beta B$ )、Bアイソフォーム ( $\beta B/\beta B$ ) の3種類が確認されておりサブユニットの組み合わせにより、互いに異なる生理活性を示すユニークなタンパク質です。

#### [参考文献]

- 1) 長谷川 喜久: 実験医学, 10 (15) (1992)
- 2) 杉野弘、中村隆範: 実験医学, 12 (12) (1994)
- 3) 杉野弘、中村隆範: 生化学, 68, 1405-1428 (1996)
- 4) 杉野弘: 医学の歩み, 18 (3) (1998)
- 5) Albano, R. et al.: *Development*, 120, 803-813 (1994)

### Follistatin, from Porcine Ovarium

生化学用

FSH 分泌抑制因子として発見されたホリスタチンはその抑制活性がインヒピンの5分の1と低く本来の生理意義は不明でした。杉野らによってアクチピンの活性発現を抑制・中和するアクチピン結合タンパク質の本体がホリスタチンであることが明らかになり、生体内でのアクチピン制御機構の解明に注目を受けています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
017-17961	Activin A, from Porcine Ovarium	生化学用	2 $\mu$ g	30,000
014-17971	Activin AB, from Porcine Ovarium	生化学用	2 $\mu$ g	30,000
011-17981	Activin B, from Porcine Ovarium	生化学用	2 $\mu$ g	30,000
063-04011	Follistatin, from Porcine Ovarium	生化学用	2 $\mu$ g	30,000

## 細胞増殖因子

### rhGH [Growth Hormone, Human, recombinant]

### rr GH [Growth Hormone, Rat, recombinant]

生化学用

ヒト成長ホルモン (hGH、別名ソマトロピン) は 191 のアミノ酸残基、分子量約 22kDa からなるポリペプチドです。作用は *in vivo* においてインスリン様増殖因子 (別名ソマトメジン) の産出を介し、各組織・器官の成長を促進することから下垂体性小人症の治療薬として知られています。 *in vitro* においてはソマトロピン自身が細胞に直接働き、増殖を促進している知見が得られ研究用試薬としても非常に有用なツールと考えられています。また、ヒトと共にラット成長ホルモンも取揃えました。

### rhIGF-I [Insulin-Like Growth Factor-I, Human, recombinant]

### rhIGF-II [Insulin-Like Growth Factor-II, Human, recombinant]

生化学用

インスリン様増殖因子は2種類のサブタイプが知られています。どちらも特異的な受容体を持ち、培養系では各種細胞の増殖を促進させます。前述のソマトロピンとは密接な関係があり、協調して生体内でのクロストークに関与しています。最近の知見ではラットの細胞において細胞増殖と骨形成を濃度依存的に促進することが報告されています。その他の作用として脂肪組織及び筋でのグルコース取込み酸化の促進 (インスリン様作用) や線維芽細胞等に対する DNA 合成の促進が挙げられます。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
074-04601	Growth Hormone, Rat, recombinant	生化学用	1mg	23,000
071-04591	Growth Hormone, Human, recombinant	生化学用	1mg	8,500
077-04593		生化学用	5mg	30,000
099-04511	Insulin-Like Growth Factor-I, Human, recombinant	生化学用	100 $\mu$ g	37,000
096-04521	Insulin-Like Growth Factor-II, Human, recombinant	生化学用	75 $\mu$ g	37,000

## ドラッグスクリーニングに アポトーシスクリーニングキット

アポトーシスの研究は、生命の本質を理解するとともに、そこで生起する様々な疾病の本態を解明し、適切な治療薬の開発や治療法を確立する上からも重要な意義を持っています。最近になり、アポトーシスを人為的にコントロールする新しい医薬品や医療技術の開発に期待が高まってきており開発された薬剤の生化学的スクリーニングが盛んに行われています。

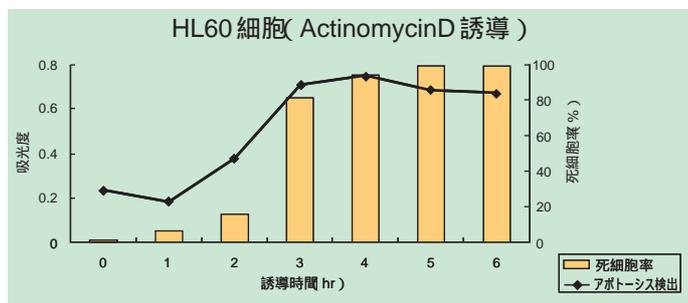
本キットは、アポトーシスの生化学的検出法である TUNEL 法 (TdT-mediated dUTP nick end labeling) の原理を応用し、アポトーシス細胞をマイクロプレート内で標識、発色させ、アポトーシスの程度を数値化します。使用する主要な試薬が全て揃っており、かつ最適化されているため、簡便、迅速に多検体処理することができます。

### 〔特長〕

- 1)  $10^4$  個の細胞に含まれる  $10^3$  個以上のアポトーシス細胞を検出
- 2) 各ステップの主な反応試薬を全てセット化、操作が簡便
- 3) 操作時間は約 3 時間と迅速

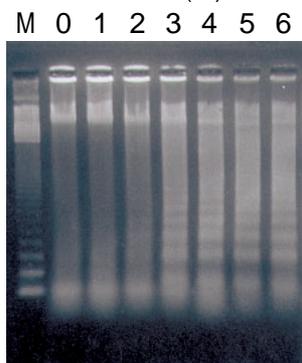
### 〔HL60 細胞のアポトーシス誘導〕

$10^4$  個の HL60 を各ウェルに蒔き、1 時間おきに  $1\mu\text{g}/\text{ml}$  アクチノマイシン D を添加して、時系列的に最長 6 時間培養し吸光度を測定した。その後、プロトコールに従って検出を行い、顕微鏡下で細胞の形態的観察により死細胞率を算出し、吸光度との相関を見た。又、時系列的にラダーリングの検出を行った。



誘導時間(hr)

DNA ラダー検出 ▶



### 〔キット内容〕

- |              |                         |
|--------------|-------------------------|
| (1) 細胞固定液    | 580 $\mu\text{l}$ × 1 本 |
| (2) 細胞浸透化液   | 19.2ml × 1 本            |
| (3) TdT      | 20 $\mu\text{l}$ × 1 本  |
| (4) TdT 基質溶液 | 4.8ml × 1 本             |
| (5) 過酸化水素水   | 340 $\mu\text{l}$ × 1 本 |
| (6) POD 標識抗体 | 20 $\mu\text{l}$ × 1 本  |
| (7) 抗体希釈液    | 9.6ml × 1 本             |
| (8) 発色基質     | 2mg × 5 錠               |
| (9) 発色基質緩衝液  | 10ml × 1 本              |
| (10) 発色停止液   | 9.6ml × 1 本             |
| (11) 滅菌プレート  | 96 ウェル × 1 枚            |

### 〔実験操作フローチャート図〕



コード No.	品名	包装	希望納入価格(円)
291-55801	Apoptosis Screening Kit wako	96 回用	46,000

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、家庭用、医療用等の用途には用いられません。

希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

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)

発行日 1999年10月15日  
発行責任者 岸井松司  
編集責任者 大西礼子  
印刷所 共進社印刷株)