

迅速・簡便なタンパク質の定量キット Protein Assay Rapid Kit wako

タンパク質量用

ピロガロールレッド- モリブデン錯体とタンパク質の複合体を比色で測定するキットです。

特長

- 発色試液はガラス、プラスチック容器への汚染が少なく水洗だけでセルやマイクロプレートの洗浄ができる。
- 本キットのすべての操作は室温中でできる。
- ワンステップで測定できる。
- 定量に要する時間は 20 ~ 25 分で完了。
- 発色試液は希釈せずにそのまま使用できる。
- プレートリーダーでも測定できる。多検体処理に便利。

内容

| | 100 回用 | 400 回用 |
|---------------------|-------------|-------------|
| 1) 発色試液 | 310ml × 1 本 | 310ml × 4 本 |
| 2) BSA 標準液 (2mg/ml) | 5ml × 1 本 | 5ml × 4 本 |

| コード No. | 品名 | 包装 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|------------------------------|--------|------------|
| 293-56101 | Protein Assay Rapid Kit wako | 100 回用 | 4,000 |
| 299-56103 | | 400 回用 | 11,000 |

キットの性能につきましては、P.17 をご参照下さい。

目次

百年前の化学
「1900年の化学を顧みて」 芝 哲夫2

総説
「低温ラジカル開始剤—V-70及びV-70Lを用いる立体選択的ラジカル反応—」 北 泰行、五反田建徳、岡 正久、佐野 淳典6
「カルモジュリンとその阻害剤」 尾崎 博10
「新規カチオン性SH保護試薬 TAPS-sulfonateの蛋白質工学への応用—大腸菌に生産させたSS結合を持つ外来性タンパク質の精製と巻き戻し—」 山田 秀徳28

シリーズ
< Talking of LAL >
「第38話 非特異的濁り」土谷 正和20
< How to アポトーシス >
「第9話 プログラム細胞死と疾患」 口野 嘉幸22

< 脳科学—口メモ >
「脳虚血による学習記憶障害とNO」 富樫 広子、吉岡 充弘26

テクニカルレポート
「HPLC法によるビスフェノールAとノニルフェノールの分析」 上森 仁志18

新製品フラッシュ
プロテインアッセイラピッドキットwako ...1,17
エラスチカワンギーソン染色用試薬、アザン染色用試薬5
V-70L、V-708
特定フロン代替溶媒、Chiron Technologies 社 固相有機合成研修プログラム9
新規マリントキシン、ペロトキシン-1,-2 混合品13
BioChain 社 Northern Blot/cDNA14
ワコーシル®C-200、C-300、エーザイ(株)ビタミンE定量用試薬 他19
リムルステストチューブ-S(アルミキャップ付) アサヒビール薬品(株)抗ヒトIgGモノクローナル抗体 他21
TRAIL、アンジオジェネシス研究試薬24
NS2028、YC-1 他27
日本化薬(株)動物用1,5AGキット31
DNAオリゴマー(10)セット32
アガロース-プレキャストゲル、(株)ニッポンジーン Cap Site cDNA® dT33
ラット RANTES ELISA キットwako34
流動パラフィン(ミネラルオイル) 抗菌抗かび研究用試薬35
マイクロカプセル化スキャンジウムトリフルオロメタンスルホン酸36

1900 年の化学を顧みて

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

量子論の誕生

1900 年は古典物理学と現代物理学を分ける正に画期的な年となった。ドイツの Max Karl Ernst Ludwig Planck (1858-1947) による量子論の提唱によってである。それまでに、黒体放射の波長分布に対して、J. W. S. Rayleigh¹⁾ と W. Wien²⁾ はそれぞれ方程式を提出していたが、それらは長波長側と短波長側の半分だけしか説明できなかった。それに対して、Planck は放射されるエネルギーは連続的な値をとるのではなく、1 個のエネルギーは波長の逆数に比例するとして、量子 quantum という新しい概念をはじめて導入した。その原報³⁾ はわずか 4 頁の短い報告であった。当時、この量子論はただ黒体放射を説明するための数学的仮説に過ぎないと考えられていたが、その後、N. Bohr の原子内電子運動への拡張、W. K. Heisenberg によるマトリックス力学の提唱、1926 年の E. Schrödinger の波動力学の提出によって、量子力学の体系が確立されるに至った。

放射能の線、線の正体わかる

フランスの Antoine Henri Becquerel (1852-1908) が 1896 年に発見していたウラン化合物から発する放射能は、 α 、 β 、 γ 線の 3 成分から成ることがわかったが、Becquerel はその中の β 線は磁场の中で弯曲することから、その本体が電子であることをつきとめた⁴⁾。

また同じフランス人の Paul Ulrich Villard (1860-1934) はウラン放射能の中の磁場の影響を受けない γ 線は、X 線に似て透過性が強いことを見つけ、これが短波長の放射線であることをこの年に明らかにしている^{5,6)}。

ラジウムエマナチオンは希ガスラドンであった

ドイツの Friedrich Ernst Dorn (1848-1916) は 1898 年にキュリー夫妻によって発見されていたラジウムは単に放射線を発するだけではなく、放射能を持つ気体を発散することを発見し、これをラジウムエマナチオンと名づけた。しかしこの気体はその後の詳細な研究によって、この数年前までに相次いで発見されていたヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトン、キセノンにつぐ第 6 番目の新しい希ガス元素であることがわかった⁷⁾。この新元素ははじめ W. Ramsay によって Niton と名づけられていたが⁸⁾、1923 年に IUPAC により Radon (Rn) ラドンと新たに命名された⁹⁾。その名は radium emanation の両端を結合して作られた。

トリウム放射性エマナチオンも発見される

放射性ガスはラジウムのみならず、トリウムの場合にも存在することが、Ernst Rutherford (1871-1937) によって明らかにされ、トリウムエマナチオンと呼ばれていた^{10,11)}。これも 1923 年以來、Thoron (Tn) トロンと呼ばれるよ

うになった⁹⁾。これはラドンの同位体 ^{220}Rn である。

アレンの法則見つかる

粘性液体の中を運動する球が流体から受ける抵抗の研究を行っていたイギリスの H. S. Allen は、その抵抗 F は $d^{3/2}u^{3/2}$ $^{1/2}$ $^{1/2}$ に比例するというアレンの法則を実験的に見つけた。d は球の直径、u は速度、 ρ は密度、 η は粘性率である。この法則が適用できるのはレイノルズ数すなわち $R = \rho lu / \eta$ が約 1 から 500 程度までの領域である。l は流れの中の物体の代表的な長さである。

オスミウムランプが発明される

ブンゼン門下のオーストリアの化学者 Carl von Welsbach (1858-1929) は最初の金属線電球であるオスミウムランプを発明した。

最初の金属のキレート抽出が行われる

フランスの P. Cazeneuve が Cr(IV) の抽出にジフェニルカルバジドを用いる最初の金属キレート系抽出を行い、この年に報告した。

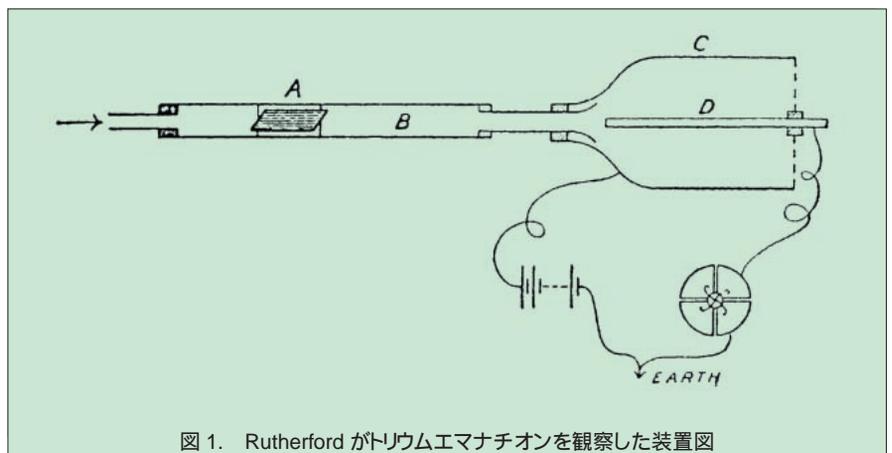


図 1. Rutherford がトリウムエマナチオンを観察した装置図

グリニヤール反応発見さる

炭素-炭素結合形成反応として、有機ハロゲン化合物に亜鉛を用いる Frankland 反応が知られていた¹²⁾。フランスのリヨン大学の François Auguste Victor Grignard (1871-1935) は師の A. Barbier のすすめで、亜鉛の代わりにマグネシウムを用いる反応を試みてみた。この反応で今日グリニヤール試薬として知られているマグネシウム化合物 RMgX が形成されていることを見出した。このグリニヤール試薬がケトンやアルデヒドと反応して、アルコール、カルボン酸、炭化水素が生成するグリニヤール反応の発見につながった。この年、この反応がはじめて *Compt. Rend.* 誌に発表された^{13,14)}。Grignard はこの反応の発見で 1912 年にノーベル化学賞を受賞した。師と名前を連らねた Grignard-Barbier 反応は、分子中にケトンとハロゲンの両者を持つ鎖状分子から一挙に環状アルコールが得られる反応をいう。

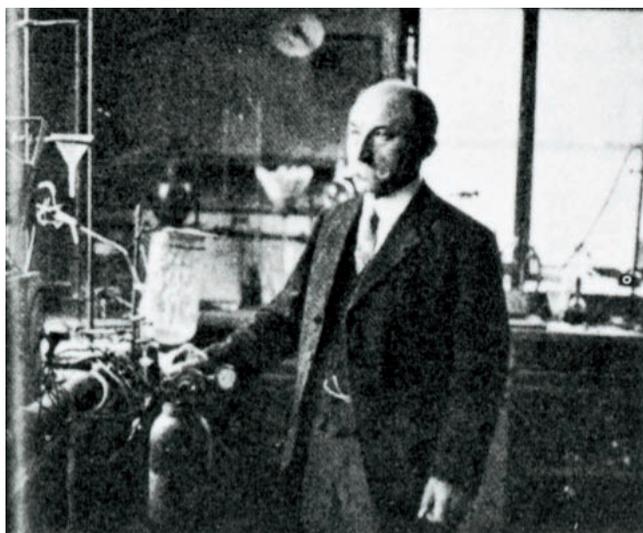


写真 1. 実験室における Grignard

フリーラジカルの発見

Moses Gomberg (1866-1947) はそれまで多くの化学者が試みて成功しなかった一個の炭素原子に 4 個のベンゼン環が結合した化合物の合成に挑戦して、遂にテトラフェニルメタンの合成を成し遂げた。つぎに Gomberg は 6 個のベンゼン環をエタンに結合させたヘキサフェニルエタンの合成を試みた。しかし、この化合物は得ることができなくて、かわりに強く着色した化合物が得られた。この年に Gomberg はこの着色物質は目的のヘキサフェニルエタンが二つに分解したトリフェニルメチルのラジカルであることを発見した^{15,16)}。今日ではこれは不対電子を持つフリーラジカルすなわち遊離基であることがわかっていて、広く化学反応の中間体として想定されている。フリーラジカルは一般には不安定で、トリフェニルメチルのように一定時間安定で存在する場合は少ない。トリフェニルメチルの場合も無極性溶媒中では二量体との平衡状態で存在する¹⁷⁾。



写真 2. Gomberg

フルベンがはじめて合成される

この前年に、二重結合の部分原子価説を提唱したドイツの Friedrich Johannes Thiele (1865-1918) が、この年シクロペンタジエンに塩基の存在下にアルデヒドまたはケトンを縮合させて、はじめてフルベンを合成した¹⁸⁾。

フルベンはベンゼンの構造異性体とみなされるにかかわらず、その二重結合が交叉共役している点に特徴がある。その名フルベン fulven はラテン語の黄色 fulvus に由来することからわかるようにこの化合物は黄色を呈している。

メンデルの遺伝法則の再発見

オーストリアの牧師 George Johann Mendel (1822-1884) が 1865 年に教会の庭のエンドウを材料にして、メンデルの法則を発見したことは今日ではよく知られている。この報告は "Versuche über Pflanzen Hybriden"

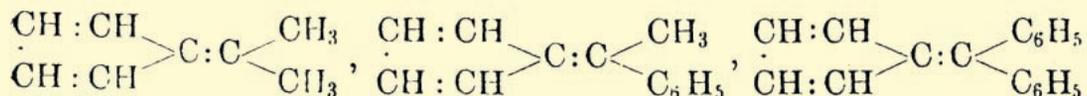


図 2. Thiele の原報にあるフルベンの構造式

の題名で、Verhandlungen des Naturforschenden Vereins in Brünn, 4, 1865 に発表されていた。しかしこの報告はメンデルの死後の 1900 年まで見る人もなく、35 年間全く埋もれていた。この年になって同時に、オランダの Hugo Marie De Vries とドイツの Karl Franz Joseph Correns とオーストリアの Erich Tschermak von Seysenegg の 3 人が、それぞれ独立にこの論文を読み、メンデルの法則を再発見して、ここに遺伝学の基礎が固められることになった。

血液型がはじめて発見される

この年、オーストリアの医学者 Karl Landsteiner(1868-1943) が、人の血液には O, A, B, AB の 4 型があることを発見した。O 型は他の誰にでも輸血できるが、A は A または AB のみに、B は B または AB のみに、AB は AB のみにしか与えられないというよく知られた関係を明らかにし、輸血を合理的な医療技術とすることができた。

今日では、糖鎖を抗原とする血液型に ABO 式以外にもルイス式など全部で 4 種あることが知られているが、ABO 式の場合の血液凝集原となる血液型物質は基本的には同じ糖鎖を有する糖蛋白質で、O 型の糖鎖の非還元末端に N-アセチルガラクトサミンがつくと A、ガラクトースがつくと B となるという構造上の違いに基づくことが明らかになっている。

東京工業試験所の前身工業試験所創立

明治 33 年(1900)に農商務省工務局所属の工業試験所創立の官制が公布された。これはわが国最初の国立化学工業試験機関で、初代所長は高山甚太郎(1855-1914)で、当初の職員数は 15 名であった。実際には明治 35 年(1902)に、深川越中島に新庁舎が

はじめて建設され、第 1 部は一般化学分析および検定、第 2 部は化学工業に関する試験研究の 2 部門で発足した。第 3 ~ 5 部の窯業、染色、電気化学は明治末年までに増設された。大正 7 年(1918)に大阪工業試験所が設置された時、東京工業試験所と改称された。現在では工業技術院物質工学工業技術研究所と長い名前になったが、物質研と略称されている。

『化学語彙』が発刊される

この年、高松豊吉、桜井錠二共編の『化学語彙』が内田老鶴圃から発行された。化学語彙の問題には創立直後からの東京化学会の辿った足跡が反映されている。創立の年の明治 11 年(1878)に訳語制定委員会が設けられたが、まず論議は「化学」とすべきか、「舎密学」とすべきかの議論から始めて、化学命名法の統一は難航し、明治 20 年(1887)には統一訳語は強制できないことになった。しかし何らかの形で、制定委員会の成果は残しておきたいとして、明治 24 年(1891)に『化学訳語集』がはじめて発行された。その売行きが良好であったこともあって、明

治 29 年(1896)に再度、新訳語委員会が結成されたが、再び議論は紛糾を重ねて、遂に委員会案は正式には採用されないことになった。しかしその成果を保存する希望が強く、この年、有志によって漸く稿本として取りまとめられたのが本書であった。

〔参考文献〕

- 1) Rayleigh, J. W., Jeans, J. : Phil. Mag., 49, 539 (1900)
- 2) Wien, W. : Ann. Physik., 58, 662, (1896)
- 3) Planck, M. : Verhandl. Dtsch. Phys. Ges., 2, 206, 237 (1900)
- 4) Becquerel, H. : Compt. Rend., 130, 809 (1900)
- 5) Villard, O. : Compt Rend., 130, 1010, 1178 (1900)
- 6) Becquerel, H. : Compt. Rend., 130, 1154 (1900)
- 7) Dorn, E. : Abhandl. Naturforsch. Ges. (Halle) 22, 155 (1900)
- 8) Ramsay, W., Soddy, F. : Proc. Roy. Soc., 72, 204 (1903)
- 9) Aston, F.W., Baxter, G. P. : J. Amer. Chem. Soc., 45, 867 (1923)
- 10) Rutherford, E. : Phil., Mag., 49, 1, 161 (1900)
- 11) Rutherford, E. : Physik. Z., 1, 347 (1899/1900)
- 12) Frankland, E. : Ann., 71, 173 (1849)
- 13) Grignard, V. : Compt. Rend., 130, 1322 (1900)
- 14) Fieser, L. F., Fieser, M. : Advanced Organic Chemistry, pp.114, 270 (1961)
- 15) Gomberg, M. : J. Amer. Chem. Soc., 22, 757 (1900)
- 16) Gomberg, M. : Ber., 33, 3150 (1900)
- 17) Lankamp, H., Nauta, W.Th., MacLean, C. : Tetrahedron Lett., 249 (1968)
- 18) Thiele, J. : Ber., 33, 666 (1900)

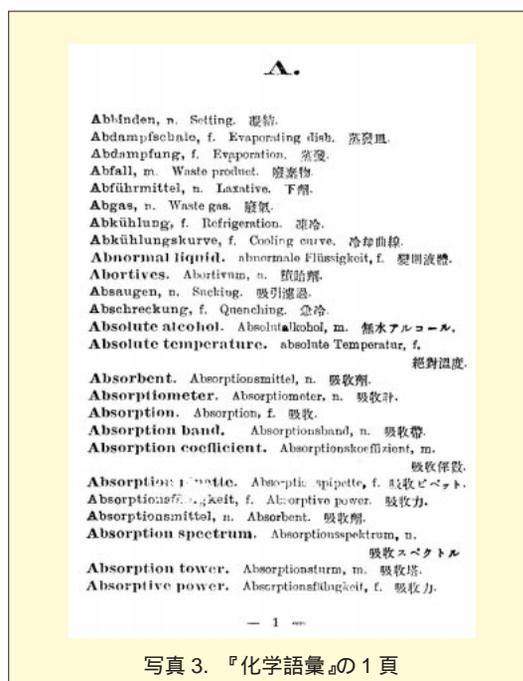


写真 3. 『化学語彙』の 1 頁

病理染色液：結合組織の染色

エラスチカワンギーソン染色

結合組織の中で膠原線維は障害組織の修復過程において最も顕著に増加します。ワンギーソン染色は最も多く利用されている膠原線維の染色法ですが、通常単独で行われることは少なく、特に弾性線維染色と組合せたエラスチカワンギーソン染色が弾性線維・膠原線維・筋線維を同時に染め分けが可能な染色法として広く使われています。

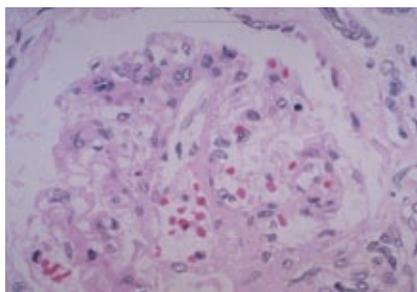
〔染色結果〕

弾性線維：黒紫色
 膠原線維：赤色
 筋線維、赤血球、細胞質：黄色
 核：黒紫色

ワイゲルト鉄ヘマトキシリン染色セット

〔構成〕

ワイゲルト鉄ヘマトキシリン液Ⅰ(1%ヘマトキシリン-96%エタノール).....500ml
 ワイゲルト鉄ヘマトキシリン液Ⅱ(2%塩化第二鉄-0.25%塩酸).....500ml
 用時調製：Ⅰ、Ⅱ各液を等量混合して下さい



ヒト腎臓の染色

ワイゲルト・レゾルシンフクシン液

〔組成〕 500ml 中

レゾルシンフクシン 1g
 2%塩酸エタノール 100ml
 70%エタノール 約400ml

ワンギーソン液 F (1%酸性フクシン溶液)

ワンギーソン液 P (ピクリン酸飽和溶液)

用時調製：ワンギーソン液 F：ワンギーソン液 P = 15ml：100ml にて混合して下さい

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|------------------------|-------|-------|-----------|
| 298-21741 | ワイゲルト鉄ヘマトキシリン染色セット | 病理研究用 | 1set | 12,000 |
| 233-01655 | ワイゲルト・レゾルシンフクシン液 | 病理研究用 | 500ml | 照会 |
| 221-01415 | ワンギーソン液 F (1%酸性フクシン溶液) | 病理研究用 | 500ml | 照会 |
| 224-01405 | ワンギーソン液 P (ピクリン酸飽和溶液) | 病理研究用 | 500ml | 照会 |

アザン染色

膠原線維を選択的にアニリンブルーで染める代表的な染色法です。また、細網線維や硝子様変性、線維素などの病的産物も同時に染め分けが可能です。

〔染色結果〕

核：濃赤色
 膠原線維、糸球体基底膜、細網線維、硝子様物質、粘液：鮮青色
 線維素：赤色
 好塩基球：青色
 好酸球：赤色

アニリンブルー・オレンジ G 液

〔組成〕

アニリンブルー 0.5g
 オレンジ G 2g
 蒸留水 100ml
 酢酸 8ml
 上記組成をもとに 500ml 容量に調液してあります。

アゾカルミン G 液

〔組成〕

アゾカルミン G 0.1g
 蒸留水 100ml
 酢酸 1ml
 上記組成をもとに 500ml 容量に調液してあります。

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|------------------|-------|-------|-----------|
| 012-18055 | アニリンブルー・オレンジ G 液 | 病理研究用 | 500ml | 照会 |
| 019-18065 | アゾカルミン G 液 | 病理研究用 | 500ml | 照会 |

低温ラジカル開始剤

V-70 及び V-70L を用いる立体選択的ラジカル反応

大阪大学大学院 薬学研究科 北 泰行、五反田建徳
 和光純薬工業株式会社 化成品本部 岡 正久
 和光純薬工業株式会社 東京研究所 佐野 淳典

1. はじめに

ラジカル反応はイオン反応に比べ合成化学への利用例は少なかったが、近年反応の精密化が進み、ラジカルそのものの物理化学的性質や、ラジカル種に固有の反応性が数多くの基礎研究により明らかにされるにつれ、合成化学上大変魅力的な反応となってきた。特に最近では、従来困難とされてきた非環状系における立体制御なども可能となり、様々な生理活性物質の合成過程に組み込まれるようになった。

このような最近のラジカル反応の急速な発展の陰には、反応基質の高度なデザイン化や反応条件の検討の他に、様々なラジカル発生法の開発が関与している。最も使用頻度が高い 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) は、中性かつ加熱条件下で C-N 共有結合をホモリシスさせ、窒素分子を放出することによりラジカル種を発生できる古くから用いられてきたラジカル開始剤である。これと同タイプの開始剤として、ベンゾイルパーオキシド (BPO) を代表とする過酸化物が挙げられる。これらの開始剤は、中性条件下でラジカル種を発生できるという利点を有しているが、その発生に通常ベ

ンゼン還流以上の加熱条件が必要となるため、熱に対して不安定な化合物や、高い立体制御を必要とする反応への適用に問題を残している。この問題の解決法として、光照射法やトリエチルボランといった、低温下で働く開始剤を用いる方法が挙げられるが、光反応の場合では光の透過性を良くし光源からの発熱を抑えるという技術上の問題が生じる。またトリエチルボランはルイス酸としても作用するため、酸に敏感な基質の場合には収率の低下を引き起こす。従って中性条件下かつ低温で働くラジカル開始剤の開発は重要な課題である。

以上のような観点に基づき、著者らの研究室では中性かつ低温下で働くラジカル開始剤の探索を行ってきたが、従来ポリマー重合開始剤として工業的に使用されていた 2,2'-azobis(2,4-dimethyl-4-methoxyvaleronitrile) [V-70] が、この目的に合致したラジカル開始剤になることを見出した。また、V-70 には 2 つの不斉炭素に起因する立体異性体、すなわちラセミ型 V-70L (低融点) とメソ型 V-70H (高

融点) が存在し、V-70L の方がラジカル発生能が高く、より優れた開始剤になることを明らかにした。以下にその詳細について述べる。

2. プロモマロノニトリルのラジカル付加反応^{1,3,4)}

V-70 は、ラセミ型 V-70L とメソ型 V-70H の混合物 (1:1) として存在する (図 1)。これら各々のジアステロマーの分解速度は知られていたが²⁾、ラジカル開始剤としての反応活性については未知であった。

著者らはプロモマロノニトリル 1 とオレフィン類 2 との付加反応に V-70 を用いると、室温で効果的にラジカル種を発生させ、AIBN では困難なエノールエテル類との反応でも効率的に付加体を与えることを見出した (表 1)³⁾。さらに、V-70 は反応温度を 0 °C で、0.1 当量まで低下させても、反応時間は長くなるが (2 日間)、十分反応が進行することが分かった。また V-70L の方が V-70H より反応活性が高く、同時間中では収率良く付加体を

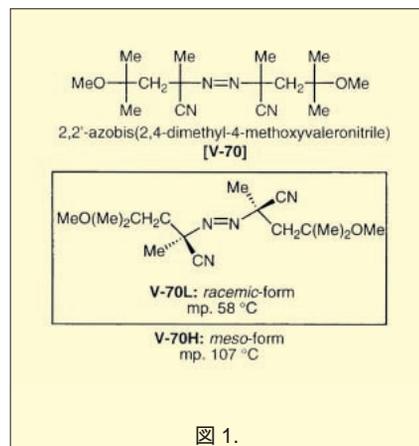
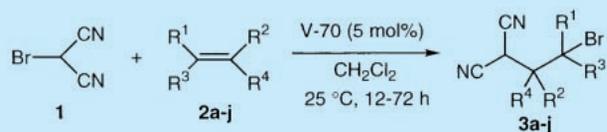


表 1. Additions of bromomalononitrile 1 to various alkenes 2 using V-70



| entry | alkene 2 | | | | Initiator | Yield of 3 (%) | |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|-------------------|-------------|
| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ | | | |
| 1 | 2a | Ph | H | H | H | V-70 | 94 |
| 2 | // | // | // | // | // | AIBN | No Reaction |
| 3 | // | // | // | // | // | BPO | No Reaction |
| 4 | // | // | // | // | // | Et ₃ B | 44 |
| 5 | // | // | // | // | // | hu | 85 |

2: R¹, R², R³, R⁴, yield of 3;

2b: Ph, H, H, Me, 68; 2c: Me, Me, Me, H, 81; 2d: Me, Me, Me, Me, 84;

2e: I(CH₂)₈, H, H, H, 78; 2f: OAc, H, H, H, 78; 2g: OEt, H, H, H, 72;

2h: cyclopentene, 88; 2i: cyclohexene, 90; 2j: norbornene, 89.

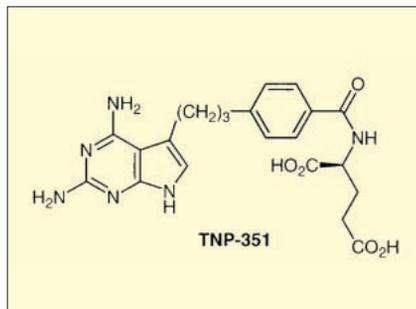
与えることも見出した(式1)³⁾。

著者らは、**1**のエノールエーテル類へのラジカル付加反応を応用して、ピロピリミジン系葉酸代謝拮抗薬であるTNP-351の簡易合成に成功した⁴⁾。TNP-351は、光付加反応を用いて既に合成されているが⁵⁾、V-70Lを使用する方が収率が良く実用的である。すなわち、実験室レベルのスケールでは光反応、V-70L使用時共に高収率で付加体を与えたが、大量スケールで行うと光照射法では収率が低下するのに対し、V-70Lでは全く低下せず、大量合成に適していることが分かった(式2)。

3. 高立体選択的 C-グリコシル化反応^{6,7)}

C-グリコシドは天然物や酵素阻害剤などのサブユニットとして存在し、またキラルビルディングブロックとしても用いられている。これらC-グリコシド類の合成においては、アノマー位の立体化学の制御が問題となる。アノマー位の立体化学の制御法の研究は数多く、Gieseらによる光照射法を用いた有用な方法が挙げられる⁸⁾。しかし、本反応では α -体と β -体の生成比は10:1であり、また還元体も多く副生し、より簡便でかつ高い立体制御法の確立が望まれていた。

本反応にも光の代わりにV-70Lを低温で用いると、 β 体(β -**8**)や還元体(**9**)等の副生を抑え、目的の α -体(α -**8**)のみを高収率で与えた。一方、本反応を他の代表的なラジカル開始剤



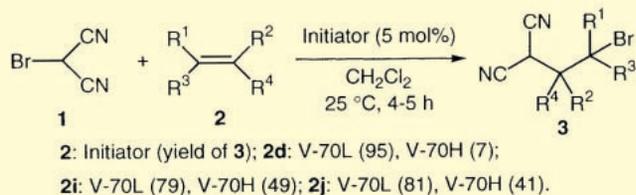
であるAIBNを用いて行った場合では α -**8**以外に、 β -**8**や**9**も同時に副生し、トリエチルボランの場合には α -**8**の収率は低く、大部分は原料を回収した(表2)。

他の活性化オレフィン類との反応でもV-70Lを用いた場合に目的の α -C-グリコピラノシド類が収率良く得られた。特筆すべきは、アクロレインなどは光照射法では複雑な混合物を与えるのみであったのに対し、V-70Lを用いると効率良く目的の付加体得られる点である。V-70Lは光や熱エネルギー

を必要としないため、不安定な試薬や基質を使用することができ、従来法では合成困難な化合物も効率良く合成することが可能となる。

またV-70LはCurranにより提唱されたUMCT反応⁹⁾にも極めて有効なことが分かった。すなわち、テトラアセチルガラクトピラノシルブロミド(**7b**)とアリルスルホン(**10**)との光UMCT反応によるC-アリル化が報告されているが¹⁰⁾、本反応にV-70Lを用いると、光反応の場合よりも速やかに進行し、高収率で α -C-アリルガラクトピラ

式1. Comparison of the activities between diastereomers of V-70



式2. Radical addition reactions of bromides **4** to enol ethers **5**

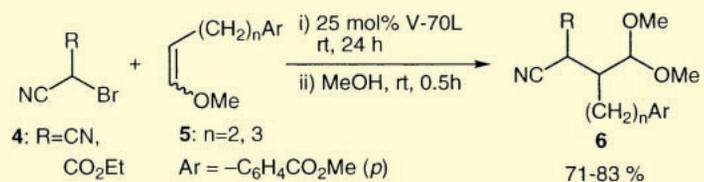
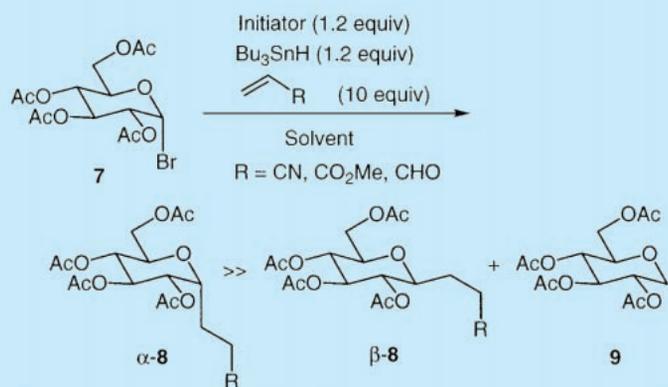


表2. Diastereoselective radical C-glycosylation by various initiators



| Entry | Initiator | Solvent | Temp. | Time (h) | Yield (%) | | |
|-------|-------------------|-------------------------------|-----------|----------|---------------------|--------------------|----------|
| | | | | | α - 8 | β - 8 | 9 |
| 1 | V-70 | Et ₂ O | rt | 12 | 68 | 0 | trace |
| 2 | V-70L | // | // | 12 | 71 | // | trace |
| 3 | AIBN | C ₆ H ₆ | reflux | 3 | 32 | 2 | 18 |
| 4 | Et ₃ B | Et ₂ O | -78 °C-rt | 10 | 18 | 0 | trace |
| 5 | h ν | // | reflux | 8 | 55 | 5 | 21 |

ノシド (α -13) を与えた (表 3)。また AIBN を用いてベンゼン還流条件でも α -13 は得られるが、収率は低い。本反応ではいずれの場合も反応は首尾良く進行し、 α -C-アリルグリコシド (α -12-15) を高収率で与えた。

4. 高立体選択的分子内ラジカル環化反応¹¹⁾

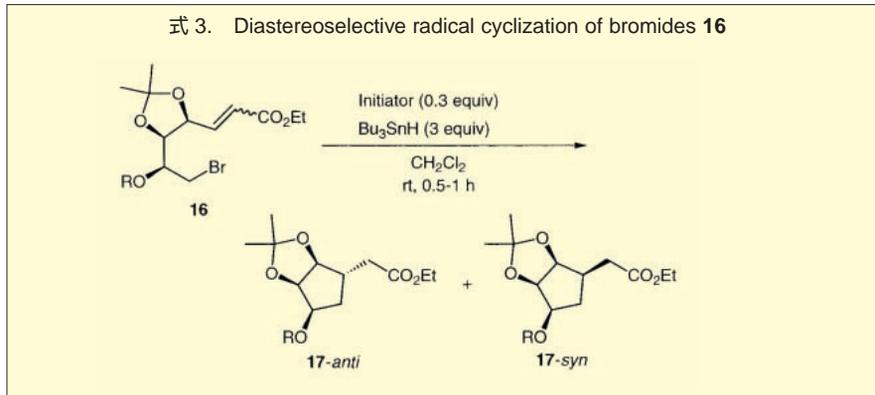
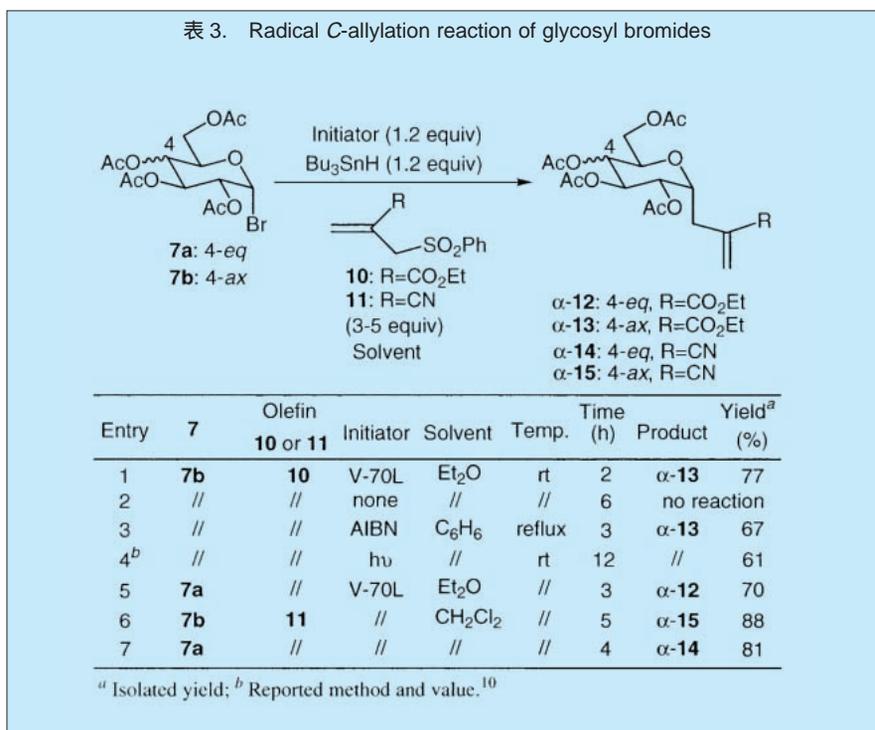
分子内ラジカル環化反応は、単環性化合物のみならず多環性化合物を一挙に構築できる手法として大変有用な反応である。この型の反応に V-70L は特に有効で、他のいずれのラジカル開始剤を用いた場合よりも反応は速やかに進行し、高立体選択的にラジカル環化体を与えることが分かった。例えば、Z-プロシド (Z-16) に対して AIBN を用いれば環化体 (17) が anti:syn = 6:1 で収率 80% で得られるが、V-70L を用い塩化メチレン中室温で 0.5-1 時間反応させると、anti:syn = 98:2 の選択性で収率 85% で 17 を与えた (式 3)。

5. おわりに

以上、V-70 および V-70L をラジカル開始剤として用いれば、室温という緩和な条件で反応が進行するために、高い立体選択性の実現が可能となる。V-70 及び V-70L は結晶で安定なために取り扱いやすく、操作的にも簡便で実用性の高い手法を提供するものである。今後、本反応剤を用いるラジカル反応が飛躍的に増えることと思う。

【参考文献】

- 1) Kita, Y.; Sano, A.; Yamaguchi, T.; Oka, M.; Gotanda, K.; Matsugi, M. *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 3549.
- 2) Palma, G.; Talamini, G.; Gasparini, P.



- Busetti, V. *Chim. Ind. (Milan)* 1970, 52, 1116.
- 3) Kita, Y.; Gotanda, K.; Murata, K.; Suemura, M.; Sano, A.; Yamaguchi, T.; Oka, M.; Matsugi, M. *Org. Process Res. Dev.* 1998, 2, 250.
- 4) Kita, Y.; Sano, A.; Yamaguchi, T.; Oka, M.; Gotanda, K.; Matsugi, M. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 675.
- 5) Miwa, T.; Hitaka, T.; Akimoto, H. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 1696.
- 6) Kita, Y.; Gotanda, K.; Sano, A.; Oka, M.; Murata, K.; Suemura, M.; Matsugi, M. *Tetrahedron Lett.* 1997, 48, 8345.
- 7) Gotanda, K.; Matsugi, M.; Suemura,

- M.; Ohira, C.; Sano, A.; Oka, M.; Kita, Y. *Tetrahedron* 1999, 55, 10315.
- 8) (a) Giese, B.; Dupuis, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1983, 22, 622. (b) Giese, B.; Dupuis, J.; Nix, M. *Org. Synth.* 1987, 65, 236.
- 9) Curran, D. P.; Xu, J.; Lazzarini, E. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1995, 3049.
- 10) Pontén, F.; Magnusson, G. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 7463.
- 11) Matsugi, M.; Gotanda, K.; Ohira, C.; Suemura, M.; Sano, A.; Kita, Y. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 6928.
- 12) Wilcox, C. S.; Thomasco, L. M. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 546.

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|------------|------|-----------|
| 011-18221 | (2RS,2'RS)-Azobis(4-methoxy-2,4-dimethylvaleronitrile) | 有機合成用 | 5g | 照会 |
| 019-18222 | 【V-70L】 | | 25g | 照会 |
| 018-11092 | 2,2'-Azobis(4-methoxy-2,4-dimethylvaleronitrile) | 95+% (Ti)① | 25g | 2,200 |
| 920-10503 | 【V-70】 | | 10kg | 照会 |

特定フロン代替溶媒

Ethyl Nonafluorobutyl Ether Methyl Nonafluorobutyl Ether

本品は、特定フロンの代替として開発されたオゾン層破壊の原因といわれる塩素ラジカルを発生しない溶媒です。従来の特定フロンの用途である洗浄溶媒、またその他一般の有機溶媒と同様にご使用いただけます。

〔特長〕

撥水性あり

各種有機溶剤との混合が容易



| 品名 | 溶媒 | | | | | |
|------------------------------|-------|---------|------|------|----------|------|
| | メタノール | 1-ブタノール | ヘキサン | ドデカン | ジエチルエーテル | アセトン |
| Ethyl Nonafluorobutyl Ether | | | | | | |
| Methyl Nonafluorobutyl Ether | | 16.8 | | 5.9 | | |

印は、どのような割合でも混合が可能。数字は 25 における溶解量(重量%)。

| コード No. | 品名 | 含量 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|------------------------------|-------------|-------|-----------|
| 051-06652 | Ethyl Nonafluorobutyl Ether | 99.0+%(cGC) | 25ml | 3,000 |
| 055-06655 | (mixture of isomers)* | | 500ml | 18,000 |
| 139-13412 | Methyl Nonafluorobutyl Ether | 99.0+%(cGC) | 25ml | 3,000 |
| 133-13415 | (mixture of isomers)* | | 500ml | 18,000 |

*本品はいずれも、*n*-ブチル体とイソブチル体の異性体混合物です。

CHIRON | TECHNOLOGIES マルチピン法による固相有機合成研修プログラム

コンビナトリアルケミストリーの合成戦略の先駆者の一つであるカイロンテクノロジー社では、マルチピン法による固相有機合成の技術を習得するために、研修プログラムを用意しております。

5日間研修プログラム概要

期間：1週間(5日間)

場所：Chiron Technologies 社 [オーストラリア、クライトン市(メルボルン市南方 20km、国立 Monasch 大学に隣接)]

費用：下記参照

特長：1)ライブラリーの合成計画と、合成後の精製、分析そして、コンピューターによる解析を行う研修プログラムです。
2)論文等では説明できない最先端の固相合成技術に関する部分も説明します。
3)研修テキストは、文書化されており、日本語文書も多数用意しております。

内容例：1)ライブラリーの合成計画
2)ライブラリー化合物合成の実施
3)各種分析方法での反応の検証(HPLC、MS、LC-MS、NMR)
4)反応の至適条件の検討
5)生成物の純度と評価
6)ライブラリーの評価
7)化合物情報のコンピューターによるデータ管理
8)合成経路の選択、精製法、純度について総合的な討議

| コード No. | メーカーコード | 名称 | 内容 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------|-------------------|----|-----------|
| 537-90531 | MITR5D01 | カイロン社研修プログラム(5日間) | 1名 | 1,800,000 |
| 533-90533 | MITR5D02 | | 2名 | 3,000,000 |

上記価格には研修上で発生する一切の実験費用と宿泊の経費と食費を含みます。

この他に、期間の長い研修プログラムもご要望に応じて準備しますのでお問合せ下さい。

カルモジュリンとその阻害剤

東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医薬理学教室 尾崎 博

はじめに

Ca²⁺ が情報伝達の担い手となるためには、Ca²⁺ に高い親和性をもつ Ca²⁺ 結合タンパク質が存在しなくてはならない。初めに発見された Ca²⁺ 結合タンパク質はトロポニンであり、骨格筋収縮のメカニズムが解明され生理学の歴史の 1 ページを刻んだ事は記憶に新しいが、その後登場したカルモジュリンの発見も今日の Ca²⁺ 研究の隆盛をもたらした大きな発見である。ここでは、生理機能における Ca²⁺ の役割とカルモジュリンについて概説した後、最近我々が発見した、天然物由来の新規カルモジュリン阻害剤、ステレタミド A を紹介したい。

1. 細胞内外の Ca²⁺ 分布の不均衡と Ca²⁺ ポンプ

Ca²⁺ は細胞内情報を伝達する 2 次メッセンジャーとして機能し、しかもその役割が細胞種を超えて普遍的であることから、現在最も注目されている無機イオンである。

動物の体を構成する無機イオンのうちで最も多いものが Ca²⁺ で、体重の約

1/20 を占め主として骨に存在している。Ca²⁺ は血液中、組織液中にも 2-3mM 程度あり、主要な成分をなしている。

しかし、細胞内の濃度は、細胞膜にある強力な Ca²⁺ ポンプで常にくみ出されるために細胞外の 1 万分の 1 (0.1 μ M 程度) しかない。この様に細胞内外で非常に大きな濃度勾配が形成されている無機イオンは他に例が無く、そこにまた Ca²⁺ の重要な生理的意味が隠されている。そして、この重要な機能を担うのが Ca²⁺ ポンプであり、細胞内から細胞外へ H⁺ と交換に Ca²⁺ を輸送する。この Ca²⁺ ポンプの活性は Ca²⁺/カルモジュリン系によって制御されている。

2. 2 次メッセンジャーとしての Ca²⁺ の標的タンパク質

Ca²⁺ が細胞内で機能するためには、細胞内に Ca²⁺ を結合しこれを感じ取るタンパク質が存在するはずである。しかも、細胞内 Ca²⁺ 濃度は最大でも 1 μ M 程度にしか増加しないため、そのタンパク質の Ca²⁺ への親和性は極めて高いこ

表 1. 主な Ca²⁺ 結合タンパク質と生理機能

| Ca ²⁺ 結合タンパク質 | 生理機能 |
|--------------------------|-------------------------------|
| トロポニン C | 骨格筋、心筋の収縮 |
| カルモジュリン | 平滑筋収縮、ホルモン分泌、グリコーゲン代謝など(別表参照) |
| C-キナーゼ | 各種の受容体刺激、細胞増殖ほか多数 |
| カルバイン | タンパク質分解 |
| カルシニューリン | タンパク質リン酸化 |
| S-100 タンパク質 | 神経機能 |
| ホスホリパーゼ C | ホスファチジルイノシトールの分解 |
| エコリン | 生物発光 |

とが想像される。

1960 年代の後半に東京大学の江橋節郎によって世界で最初に明らかにされたのが、トロポニンである。この発見によって筋収縮のスイッチが Ca²⁺ によって on/off されることが最終的に明らかにされた。1970 年代に入り、新たな Ca²⁺ 結合タンパク質として発見されたのがカルモジュリンである。カルモジュリンははじめ、大阪大学の垣内と米国の Cheng によって独立に、cAMP を分解するホスホジエステラーゼの活性化因子として見つかった。発見当初は、calcium-dependent regulator protein (CDR) と呼ばれていたが、Ca²⁺ 依存性に関する記述は垣内が最初である。その後カルモジュリンは動物という種を超え、細菌や植物にまで存在し多くの細胞機能に関係することが明らかとなり、進化の初期に生じたタンパク質と考えられている。臓器分布を見ても、全ての臓器に分布し、特異性はなく、トロポニン C とは対照的である。現在では、およそ 30 種あまりのカルモジュリン標的タンパク質が知られている。

3. カルモジュリンの構造と機能

カルモジュリンは 148 個のアミノ酸から構成される小型の耐熱性酸性タンパク質で、その一次構造あるいは立体

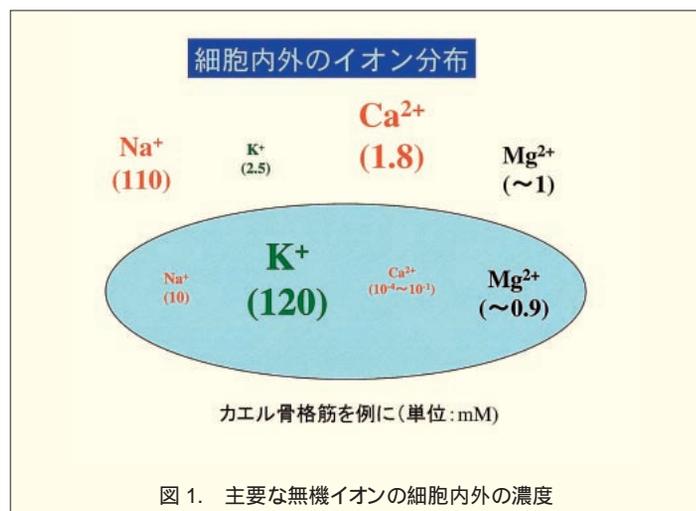


図 1. 主要な無機イオンの細胞内外の濃度

| 生理機能 | 酵素あるいはタンパク質 |
|-----------------|---|
| 二次メッセンジャー系 | 細胞膜 Ca ²⁺ -ATPase ホスホランパン(SR の Ca ²⁺ -ATPase の制御) ホスホジエステラーゼ アデニレートシクラーゼ Ca ²⁺ チャネル 構成型一酸化窒素合成酵素 |
| タンパク質リン酸化、脱リン酸化 | カルモジュリンキナーゼ ホスホリラーゼキナーゼ カルシニューリン(Type II B phosphatase) 増殖因子受容体チロシンキナーゼ |
| 筋収縮 | ミオシン軽鎖キナーゼ カルデスモン カルボニン |
| 遺伝子発現 | カルモジュリンキナーゼとカルシニューリン Basic helix-loop-helix transcription factors 核内のカルモジュリン結合タンパク質 カルモジュリン依存性エンドヌクレアーゼ RNA ヘリカーゼ |
| その他 | NAD キナーゼ ホスホフルクトキナーゼ 熱ショックタンパク質 シナプシン ニューロモジュリン |

構造がトロポニン C と似ており類縁のタンパク質である。カルモジュリンの持つ4つの helix-loop-helix の Ca²⁺ 結合部位は、トロポニン C、カルビンディン、パルブアルブミンなど他の Ca²⁺ 結合タンパク質にもみられる共通のモチーフである。始めに C 末側の2カ所 Ca²⁺ 結合部位に Ca²⁺ が結合する。これには正の協同性が働いて2カ所がほぼ同時に占拠される。さらに N 末側

の2カ所の Ca²⁺ 結合部位にも同様の正の協同性が働いて Ca²⁺ が結合する。これらの反応はカルモジュリンの標的タンパク質が存在するとさらに加速され、極めて狭い範囲の Ca²⁺ 濃度域 (0.1 ~ 1 μM) でスイッチの on/off という生理機能が果たせるようになる。表2に挙げたように、これまでの研究で、30余りにわたるカルモジュリンの多彩な機能が解明されてきた。

一方、標的タンパク質にはカルモジュリン結合部位に特異的な共通のアミノ酸配列はみられず、疎水性の20個あまりの酸性ペプチドの領域がカルモジュリンと結合する。大部分のターゲットタンパク質は、Ca²⁺/カルモジュリンが存在しない状態では不活性である。多くの場合、Ca²⁺/カルモジュリンはターゲットタンパク質の抑制性ドメインの機能を解除し、活性化部位を外へと露出させて活性化をもたらすと考えられている。

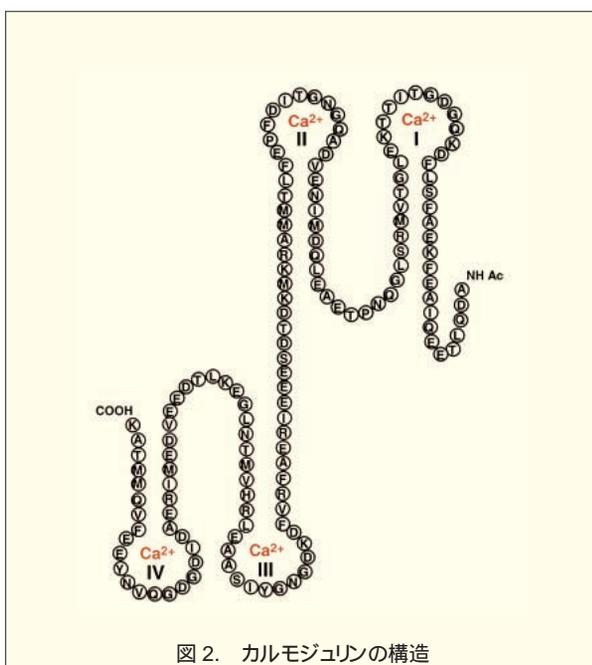


図2. カルモジュリンの構造

このことは、Ca²⁺/カルモジュリン依存性の酵素の多くが、限定分解によって恒常的に酵素活性を持つことからも指示される(コラム参照)。

4. カルモジュリン阻害剤

細胞や組織におけるカルモジュリンの生理的機能を知る上で、カルモジュリン阻害剤を用いる薬理的解析手段は強力な武器となる。これまで、以下に挙げるようなカルモジュリン阻害剤が使われてきた。

1) フェノチアジン誘導体

トリフルオペラジン、クロルプロマジンなどの向精神薬が、カルモジュリン阻害剤としてカルモジュリン発見当初から知られていた。現在でも用いられるが、少なくともドーパミン、アドレナリン、ヒスタミン、セロトニンなどの種々の受容体拮抗作用があり、特異性という観点からは評価できるカルモジュリン阻害剤とはいえない。Ca²⁺ 依存性にカルモジュリンに結合する。

2) ナフトレンスルフォナミド誘導体

W-7として現在最も広く使用されている。カルモジュリン阻害剤として意図的に合成された薬剤で、基礎的なデータも豊富である。トリフルオペラジンと同様に Ca²⁺ 依存性にカルモジュリンと結合し阻害作用を発揮する。カルモジュリンは Ca²⁺ と結合することで疎水性領域を露出して働くが、W-7もこの疎水性領域に結合すると考えられている。カルモジュリンに対して不活性の W-5 があり、対照薬として使用される。

3) カルミダゾリウム

現在最も強力なカルモジュリン阻害剤といわれるが、特異性などに関しての評価は確立していない。

4) Ca^{2+} チャンネル拮抗薬
 ペラパミル、ジル
 チアゼム、ニフェジ
 ピンなどのL-型
 Ca^{2+} チャンネル拮抗薬
 はいずれもカルモ
 ジュリン阻害作用を
 有している。ただし、
 本来の Ca^{2+} チャンネル
 拮抗に要する100 ~
 1,000倍の用量を必
 要とする。

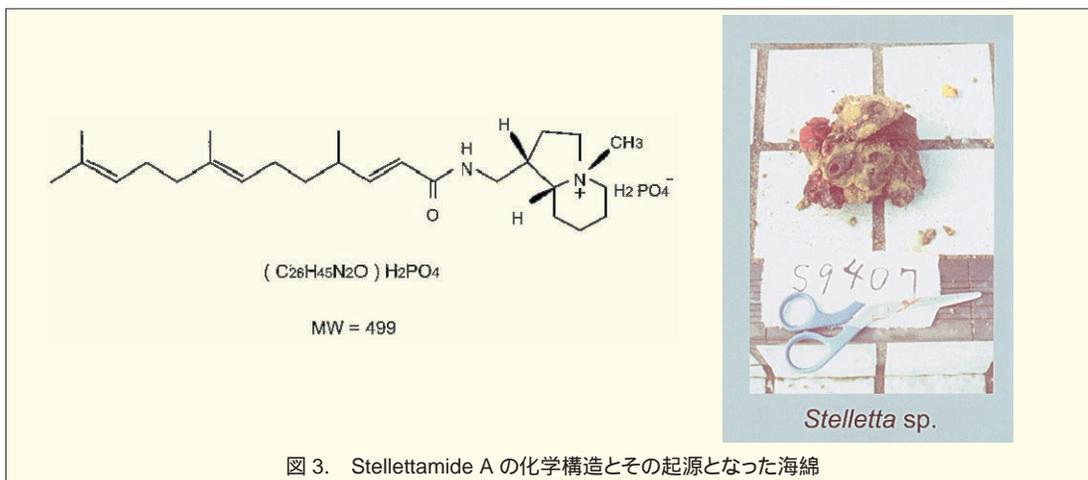


図3. Stelletamide Aの化学構造とその起源となった海綿

5) 海綿由来の新規カルモジュリン阻
 害剤：ステレッタミド A

Stelletta 種の海綿から抽出された
 stelletamide A で、ファルネシル構造
 とインドリジン骨格を持つアルカロイド
 である。これまで生理活性として、抗
 真菌作用や培養細胞に対する毒性作
 用が報告されていたが、種々のカル
 モジュリン依存性酵素反応を抑制す
 ることが明らかとなり、カルモジュ
 リン阻害剤として分類された (Abe
 et al., Br. J. Pharmacol. 121, 1309-
 1314, 1997)。カルモジュリンのチロシ
 ン蛍光抑制反応の解析から、W-7 やト
 リフルオペラジンと異なり、抑制モード
 は Ca^{2+} 非依存性である。

表3. Stelletamide Aの各種カルモジュリン依存性反応に対する作用

| カルモジュリン依存性反応 | IC50 (μM) |
|--|-----------|
| 平滑筋収縮 (72.7mM Ca^{2+} ヌモルモット盲腸紐組織) | 88 μM |
| 平滑筋収縮 3 μM Ca^{2+} ヌモルモット盲腸紐脱膜標本) | 46 μM |
| " (10 μM Ca^{2+}) " | 105 μM |
| 天然アクチン (ニワトリ筋胃) Mg^{2+} -ATPase | 25 μM |
| ミオシン軽鎖キナーゼ (ニワトリ筋胃由来) | 152 μM |
| 赤血球膜 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase | 52 μM |

終わりに

これまで Ca^{2+} の生理的役割を明ら
 かにすることは技術的な問題やその
 反応系の複雑さから多くの困難を伴い
 「headache ion」ともいわれ研究者を悩
 ましてきた。反面、 Ca^{2+} は the king of
 second messenger ともいわれ現在で

も多くの研究者が注目する研究対象で
 ある。カルモジュリンは発見から30年
 が経とうとしているが、依然として多く
 の研究がなされている。ここでは触れ
 なかったが、特に核内のカルモジュリ
 ンの役割に関する研究については今
 後新たな発展が期待されている。

❖コラム❖

カルモジュリンの機能

—平滑筋収縮を例に—

カルモジュリンの発見から10年を
 待たずに、それまで謎とされてきた
 Ca^{2+} 依存性の平滑筋収縮機構が明ら
 かとなった。当時、 Ca^{2+} 動態の観点か
 ら平滑筋の生理学的研究を行っていた
 私にとって、生化学という直接的な
 証明は実に圧巻であり、科学の進歩
 が1つの偉大な発見によって急速に
 加速されることを目の当たりにした。

収縮機構平滑筋は、消化管、気管、
 血管、泌尿生殖器などに広く分布し、
 しかも多くの病態と関連していること
 が知られ、臨床的にも重要な臓器で

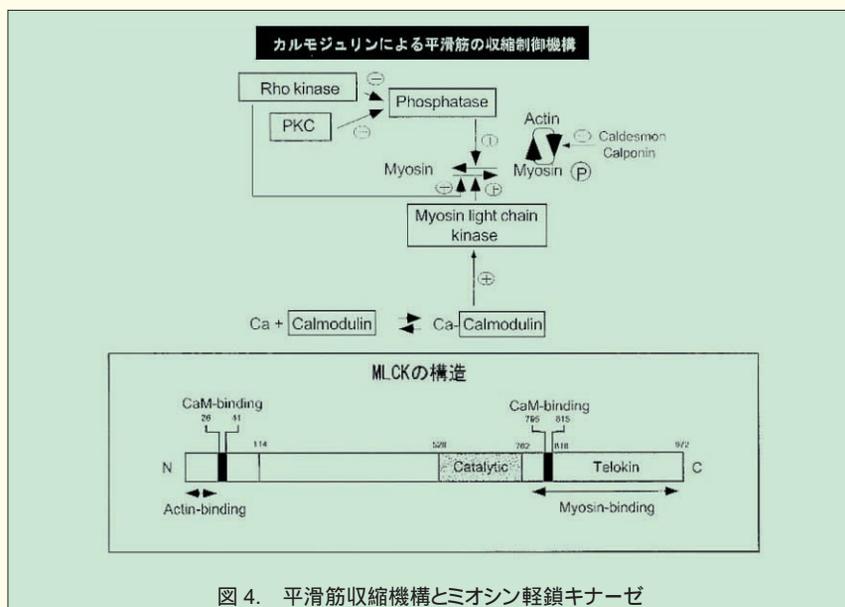


図4. 平滑筋収縮機構とミオシン軽鎖キナーゼ

ある。平滑筋の収縮が骨格筋と同様に Ca^{2+} により制御されていることは様々な生理学的実験から推測されて来たが、収縮タンパク質レベルでの機序は長い間不明であった。1980年代の初めに、平滑筋のミオシンとアクチンの反応はミオシン軽鎖のリン酸化をきっかけに起こることが複数の研究グループによって同時に示された(図4)。このミオシン軽鎖のリン酸化

の過程はカルモジュリンの発見とともに一挙に解明され、 Ca^{2+} とカルモジュリンの複合体がミオシン軽鎖キナーゼを活性化してミオシンの軽鎖をリン酸化し、これをきっかけにミオシンがアクチンと反応し収縮するという機序が明らかとなった。このミオシン軽鎖のリン酸化機構は、平滑筋収縮にとどまらず白血球などの血液細胞の遊走や分泌細胞にみられる開

口分泌にも関与することが明らかとなっている。

現在使われている医薬品の約6割は、直接あるいは間接的に平滑筋に作用することにより効果を発揮しているといわれている。平滑筋の収縮機序が明らかとなったことから、平滑筋作動薬、特に高血圧や心臓病を対象とした血管作動薬の研究が飛躍的に進んだ。

新規マリントキシン

Stelletamide A Trifluoroacetate

生化学用

ステレタミド A は、海綿 (*Stelletta* sp.) より単離抽出されたアルカロイド物質で、カルモジュリン阻害作用を有しています。従来のカルモジュリン阻害薬は化学合成品が多く、天然物であ

るステレタミド A は大変注目されております。

〔規格〕

含量(HPLC):95.0%以上

〔参考文献〕

Abe, Y., Saito, S., Hori, M., Ozaki, H., Fusetani, N. and Karaki, H. : *Br. J. Pharmacol.*, 121, 1309 (1997)

| | | |
|-----------|-------------|---------|
| 193-11831 | 100 μ g | 30,000円 |
|-----------|-------------|---------|

Bistheonellide A (Misakinolide A)

生化学用

ビステオネライド A は、海綿 (*Theonella* sp.) より単離抽出された物質でアクチンの重合を阻害します。ビステオネライド A1 分子が2分子のG-アクチンと結合して隔離する作用を持ち、F-アクチンの切断作用は持っていません。

〔規格〕

含量(HPLC):95.0%以上

〔参考文献〕

- 1) Saito, S., Watabe, S., Ozaki, H., Kobayashi, M., Suzuki, T., Kobayashi, H., Fusetani, N. and Karaki, H. : *J. Biochem.*, 123 (1998)
- 2) Watabe, S., Wada, S., Matsunaga, S., Fusetani, N., Ozaki, H. and Karaki, H.

: *Cell. Struct. Funct.*, 21, 199 (1996)

| | | |
|-----------|-------------|---------|
| 026-13711 | 100 μ g | 30,000円 |
|-----------|-------------|---------|

〔関連商品〕

Mycalolide B

生化学用

| | | |
|-----------|-------------|---------|
| 132-12081 | 100 μ g | 30,000円 |
|-----------|-------------|---------|

Verotoxin -1, -2 Mix.

生化学用

病原性大腸菌には、感染により出血性の大腸炎を起こす一群の存在が知られており、腸管出血性大腸菌と呼ばれています。腸管出血性大腸菌による感染症は、指定伝染病に指定されており、食肉をはじめ、食品の汚染が主要な感染源と考えられています。この腸管出血性大腸菌 O157:H7 等はベロ毒素と呼ばれる毒素を生産する事を特長としており、抗原性の違いにより1型(VT1)と2型(VT2)の2種類があります。特にVT1は志賀毒素と同じである事が知られています。

本品は、腸管出血性大腸菌 O157:H7 より調製したVT1とVT2の混合物です。ベロ毒素の検査における陽性コントロール等に有効です。

起 源 : *Escherichia coli* O-157:H7

形 状 : 凍結乾燥品

調製方法 : 本品を室温に戻した後、正確に0.5mlの精製水を加えて約5分間静置した後、穏やかに転倒しながら混和します。

(ベロキシンテストワークの陽性コントロールとして使用される場合は、左記調製液130 μ lを検出用テストプレートの検体滴下部に滴下し、室温で15~30分反応させて下さい。)

| | | |
|-----------|--------|---------|
| 226-01421 | 0.5ml用 | 33,000円 |
|-----------|--------|---------|

〔関連商品〕

イムノクロマトによりベロキシン(VT1, VT2)を簡易に検出可能

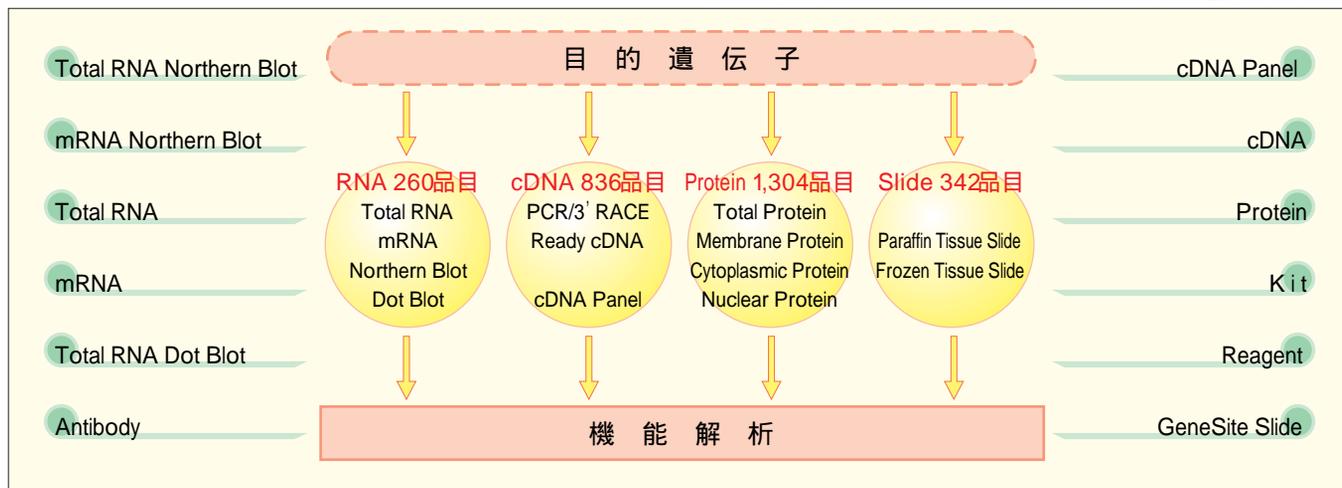
Verotoxin test wako

ベロキシン 1型, 2型検出用

| | | |
|-----------|------|---------|
| 299-55101 | 25回用 | 50,000円 |
|-----------|------|---------|

Northern Blot / cDNA

ヒト遺伝子機能解析の革命児



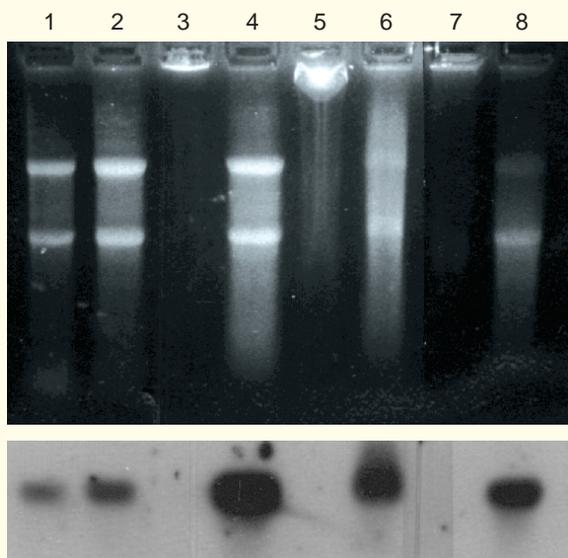
現在、世界中でヒトの全遺伝子塩基配列を決定するゲノムプロジェクトがスタートし、あと数年で終了する段階にきています。しかし、それぞれの遺伝子が生命現象にどのように関与しているかが重要な課題となっており、今後、特に遺伝子発現や機能解析を行うことが必要になります。

BioChain Institute, Inc. は、ポストゲノムプロジェクトの研究において、必要となる製品群を豊富に取揃えており、研究の必要に応じて、性別、年齢、人種など、素性の明らかなヒトの成人正常組織、胎児正常組織、がん組織、病変組織などから調製した一連の製品群をご提供します。

〔特長〕

- 豊富な品揃え156 種類の組織由来の製品群
- 確かな品質独自の抽出方法による高純度な製品群
- ヒトの成人正常組織、胎児正常組織、がん組織、病変組織由来の製品をラインナップ
- ヒト以外にマウス、ラット、モンキー（シミアン）由来製品をラインナップ
- 煩雑なサンプル調製が不要

〔BioChain 独自の RNA 抽出技術の優位性（他の抽出方法との比較）〕



Human Lung(Lane 1, 2)及び Cartilage(Lane 3-8)由来 RNA

上のパネル：RNA アガロースゲル電気泳動像
 下のパネル：GAPDH プローブでハイブリダイズしたノーザンプロット

Lane 1-4, BioChain 法で抽出； Lane 5-6, Trizol 試薬(AGPC 法)で抽出； Lane 7-8, カラム法で抽出。

更に BioChain の特別処理(夾雑物除去)を行った RNA(Lane 2, 4, 6, 8)の品質は、未処理の RNA(Lane 1, 3, 5, 7)に比べて非常に改良された。特に多糖類やプロテオグリカンを多く含む Cartilage においても高純度の RNA が抽出されている。

mRNA Northern Blot

〔特長〕



非常に intact な高純度 RNA を使用

mRNA 量で標準化したタイプ (NBA) 及び β -actin の発現量で標準化したタイプ (NBE) を用意

すべての製品に内部標準がプロットされているため、プロット間の比較が容易

RI 及び Non-RI 標識プローブが使用可能

耐久性に優れているため、繰り返しのハイブリダイゼーションも可能

| コード No. | メーカーコード | 品名 | 由来組織 | 包装 | 希望納入価格(円) |
|-----------------------------|----------|--------------------------------------|---|----|-----------|
| Human | | | | | |
| 522-45611 | 021101-E | Adult Normal Tissue NBE-I | heart, brain, liver, pancreas, skeletal muscle, lung | 1個 | 113,000 |
| 529-45621 | 021101-A | Adult Normal Tissue NBA-I | heart, brain, liver, pancreas, skeletal muscle, lung | 1個 | 113,000 |
| 526-45631 | 021102-E | Adult Normal Tissue NBE-II | stomach, jejunum, ileum, colon, rectum, lung | 1個 | 113,000 |
| 523-45641 | 021102-A | Adult Normal Tissue NBA-II | stomach, jejunum, ileum, colon, rectum, lung | 1個 | 113,000 |
| 520-45651 | 021103-E | Adult Normal Tissue NBE-III | brain, uterus, placenta, kidney, spleen, lung | 1個 | 113,000 |
| 527-45661 | 021103-A | Adult Normal Tissue NBA-III | brain, uterus, placenta, kidney, spleen, lung | 1個 | 113,000 |
| 524-45671 | 021105-E | Adult Normal Tissue NBE-V | uterus, cervix, ovary, testis, prostate, lung | 1個 | 113,000 |
| 521-45681 | 021105-A | Adult Normal Tissue NBA-V | uterus, cervix, ovary, testis, prostate, lung | 1個 | 113,000 |
| 528-45691 | 021106-E | Adult Normal Tissue NBE-VI | heart, liver, pancreas, testis, prostate, lung | 1個 | 113,000 |
| 521-45701 | 021106-A | Adult Normal Tissue NBA-VI | heart, liver, pancreas, testis, prostate, lung | 1個 | 113,000 |
| 528-45711 | 021107-E | Adult Normal Tissue NBE-VII | uterus, cervix, ovary, placenta, spleen, lung | 1個 | 113,000 |
| 525-45721 | 021107-A | Adult Normal Tissue NBA-VII | uterus, cervix, ovary, placenta, spleen, lung | 1個 | 113,000 |
| 522-45731 | 021108-E | Adult Normal Tissue NBE-VIII | brain, kidney, spleen, intestine, uterus, cervix, placenta, lung | 1個 | 138,000 |
| 529-45741 | 021108-A | Adult Normal Tissue NBA-VIII | brain, kidney, spleen, intestine, uterus, cervix, placenta, lung | 1個 | 138,000 |
| 526-45751 | 021109-E | Adult Normal Tissue NBE-IX | stomach, jejunum, ileum, colon, rectum, placenta, diaphragm, lung | 1個 | 138,000 |
| 523-45761 | 021109-A | Adult Normal Tissue NBA-IX | stomach, jejunum, ileum, colon, rectum, placenta, diaphragm, lung | 1個 | 138,000 |
| 520-45771 | 021191-E | Adult Normal Tissue NBE-B-I | Brain: frontal lobe, temporal lobe, parietal lobe, occipital lobe, cerebellum, lung | 1個 | 113,000 |
| 527-45781 | 021191-A | Adult Normal Tissue NBA-B-I | Brain: frontal lobe, temporal lobe, parietal lobe, occipital lobe, cerebellum, lung | 1個 | 113,000 |
| 524-45791 | 022101-E | Fetal Normal Tissue NBE-I | brain, liver, lung, skeletal muscle, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 527-45801 | 022101-A | Fetal Normal Tissue NBA-I | brain, liver, lung, skeletal muscle, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 524-45811 | 022102-E | Fetal Normal Tissue NBE-II | heart, kidney, skin, small intestine, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 521-45821 | 022102-A | Fetal Normal Tissue NBA-II | heart, kidney, skin, small intestine, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 528-45831 | 022103-E | Fetal Normal Tissue NBE-III | brain, kidney, lung, small intestine, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 525-45841 | 022103-A | Fetal Normal Tissue NBA-III | brain, kidney, lung, small intestine, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 522-45851 | 022104-E | Fetal Normal Tissue NBE-IV | heart, liver, skeletal muscle, skin, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 529-45861 | 022104-A | Fetal Normal Tissue NBA-IV | heart, liver, skeletal muscle, skin, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 526-45871 | 022191-E | Fetal Normal Tissue NBE-B-I | Brain: frontal lobe, temporal lobe, parietal lobe, occipital lobe, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 523-45881 | 022191-A | Fetal Normal Tissue NBA-B-I | Brain: frontal lobe, temporal lobe, parietal lobe, occipital lobe, adult lung | 1個 | 113,000 |
| 520-45891 | 024101-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-I | colon, normal colon, rectum, normal rectum, normal lung | 1個 | 225,000 |
| 523-45901 | 024102-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-II | breast, normal breast, uterus, normal uterus, normal lung | 1個 | 225,000 |
| 520-45911 | 024103-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-III | kidney, normal kidney, lung, normal lung, normal lung | 1個 | 225,000 |
| 527-45921 | 024104-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-IV | bladder, normal bladder, esophagus, normal esophagus, normal lung | 1個 | 225,000 |
| 524-45931 | 024105-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-V | liver, normal liver, stomach, normal stomach, normal lung | 1個 | 225,000 |
| 521-45941 | 024106-A | Tumor Tissue Multi Type NBA-VI | ovary, normal ovary, uterus, normal uterus, normal lung | 1個 | 225,000 |
| | 025104-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Breast | 1個 | 225,000 |
| | 025105-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Colon | 1個 | 225,000 |
| | 025109-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Lung | 1個 | 225,000 |
| | 025114-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Stomach | 1個 | 225,000 |
| | 025106-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Esophagus | 1個 | 225,000 |
| | 025107-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Kidney | 1個 | 225,000 |
| | 025108-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Liver | 1個 | 225,000 |
| | 025112-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Rectum | 1個 | 225,000 |
| | 025116-A | Single Tumor Tissue Multi Sample NBA | Uterus | 1個 | 225,000 |
| Mouse / Rat / Monkey | | | | | |
| 528-45951 | 023101-E | Mouse Tissue NBE | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, adipose, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |
| 525-45961 | 023101-A | Mouse Tissue NBA | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, adipose, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |
| 522-45971 | 026101-E | Rat Tissue NBE | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, small intestine, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |
| 529-45981 | 026101-A | Rat Tissue NBA | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, small intestine, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |
| | 027101-E | Monkey (Simian) Tissue NBE | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, small intestine, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |
| | 027101-A | Monkey (Simian) Tissue NBA | heart, brain, kidney, lung, spleen, skeletal muscle, small intestine, human adult normal lung | 1個 | 150,000 |

cDNA Panel

〔特長〕

PCRによる遺伝子発現解析に最適

ほぼ完全な5'末端領域を含むcDNA（90 kb以上のtitin遺伝子の発現を確認）

すべての製品に内部標準をセット



| コードNo. | メーカーコード | 品名 | 由来組織 | 包装 | 希望納入価格(円) |
|-----------------------------|---------|--|--|----|-----------|
| Human | | | | | |
| 521-46041 | 0516001 | Adult Normal Tissue-Major Organ 1 | heart, brain, kidney, liver, placenta | 1個 | 84,000 |
| 528-46051 | 0516002 | Adult Normal Tissue-Major Organ 2 | lung, pancreas, spleen, skeletal muscle, placenta | 1個 | 84,000 |
| 525-46061 | 0516011 | Adult Normal Tissue-Neural 1 | frontal lobe, temporal lobe, occipital lobe, parietal lobe, placenta | 1個 | 84,000 |
| 522-46071 | 0516012 | Adult Normal Tissue-Neural 2 | cerebral cortex, pons, cerebellum, medulla oblongata, placenta | 1個 | 84,000 |
| 529-46081 | 0516013 | Adult Normal Tissue-Neural 3 | temporal lobe, hippocampus, amygdala, thalamus, placenta | 1個 | 84,000 |
| 526-46091 | 0516014 | Adult Normal Tissue-Neural 4 | cerebral cortex, corpus callosum, cerebral peduncles, spinal cord, placenta | 1個 | 84,000 |
| 529-46101 | 0516021 | Adult Normal Tissue-Cardiovascular 1 | atrium (left), atrium (right), ventricle (left), ventricle (right), placenta | 1個 | 84,000 |
| 526-46111 | 0516022 | Adult Normal Tissue-Cardiovascular 2 | artery, vein, interventricle septum, pericardium, placenta | 1個 | 84,000 |
| 523-46121 | 0516031 | Adult Normal Tissue-Urinary 1 | kidney, ureter, bladder, prostate, placenta | 1個 | 84,000 |
| 520-46131 | 0516041 | Adult Normal Tissue-Reproductive 1 | testis, epididymus, penis, vesicula seminalis, placenta | 1個 | 84,000 |
| 527-46141 | 0516042 | Adult Normal Tissue-Reproductive 2 | ovary, fallopian tube, uterus, vagina, placenta | 1個 | 84,000 |
| 524-46151 | 0516043 | Adult Normal Tissue-Reproductive 3 | prostate, testis, ovary, uterus, placenta | 1個 | 84,000 |
| 521-46161 | 0516051 | Adult Normal Tissue-Digestive 1 | esophagus, stomach, small intestine, colon, placenta | 1個 | 84,000 |
| 528-46171 | 0516052 | Adult Normal Tissue-Digestive 2 | ascending colon, transverse colon, descending colon, rectum, placenta | 1個 | 84,000 |
| 525-46181 | 0516053 | Adult Normal Tissue-Digestive 3 | stomach cardia, stomach corpus, stomach fundus, stomach pylorus, placenta | 1個 | 84,000 |
| 522-46191 | 0516054 | Adult Normal Tissue-Digestive 4 | parotid, gallbladder, liver, pancreas, placenta | 1個 | 84,000 |
| 525-46201 | 0516055 | Adult Normal Tissue-Digestive 5 | duodenum, jejunum, ileum, cecum, placenta | 1個 | 84,000 |
| 522-46211 | 0516061 | Adult Normal Tissue-Endocrine 1 | ovary, thyroid, thymus, thalamus, placenta | 1個 | 84,000 |
| 529-46221 | 0516062 | Adult Normal Tissue-Endocrine 2 | adrenal, pancreas, testis, ovary, placenta | 1個 | 84,000 |
| 526-46231 | 0516071 | Adult Normal Tissue-Immune & Hematal 1 | tonsil, appendix, thymus, lymphonode, placenta | 1個 | 84,000 |
| 523-46241 | 0516072 | Adult Normal Tissue-Immune & Hematal 2 | peripheral blood leukocyte, liver, spleen, kidney, placenta | 1個 | 84,000 |
| 520-46251 | 0526001 | Fetal Normal Tissue-Major Organ 1 | brain, liver, lung, skeletal muscle, placenta | 1個 | 84,000 |
| 527-46261 | 0526002 | Fetal Normal Tissue-Major Organ 2 | heart, kidney, skin, small intestine, placenta | 1個 | 84,000 |
| 524-46271 | 0526011 | Fetal Normal Tissue-Neural 1 | frontal lobe, temporal lobe, occipital lobe, parietal lobe, placenta | 1個 | 84,000 |
| 521-46281 | 0526012 | Fetal Normal Tissue-Neural 2 | cerebral cortex, pons, cerebellum, spinal cord, placenta | 1個 | 84,000 |
| 528-46291 | 0526031 | Fetal Normal Tissue-Urinary & Reproductive 1 | kidney, ovary, bladder, uterus, placenta | 1個 | 84,000 |
| 521-46301 | 0526051 | Fetal Normal Tissue-Digestive 1 | esophagus, stomach, small intestine, colon, placenta | 1個 | 84,000 |
| 528-46311 | 0526052 | Fetal Normal Tissue-Digestive 2 | parotid, gallbladder, liver, pancreas, placenta | 1個 | 84,000 |
| 525-46321 | 0526061 | Fetal Normal Tissue-Endocrine 1 | adrenal, pancreas, thymus, thyrotid, placenta | 1個 | 84,000 |
| 522-46331 | 0526081 | Fetal Normal Tissue-Immune 1 | tonsil, appendix, thymus, spleen, placenta | 1個 | 84,000 |
| 529-46341 | 0546451 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Adipose 1 | lipoma, liposarcoma, angioliopoma, normal adipose, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 526-46351 | 0546011 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Adrenal 1 | adenocarcinoma, pheochroma-cytoma, adenoma, normal adrenal, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 523-46361 | 0546031 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Bone 1 | osteosarcoma, chondroblas-toma, chondrosarcoma, giant cell tumor, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 520-46371 | 0546041 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Brain 1 | astrocytoma, glioma, meningioma, normal brain, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 527-46381 | 0546051 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Breast 1 | invasive ductal carcinoma, intraductal carcinoma, invasive lobular carcinoma, normal breast, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 524-46391 | 0546052 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Breast 2 | medullary carcinoma, mucous adenocarcinoma, colloid carcinoma, normal breast, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 527-46401 | 0546053 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Breast 3 | adenosis, adenoma, lobular carcinoma in situ, normal breast, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 524-46411 | 0546111 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Kidney 1 | clear cell carcinoma, granular cell carcinoma, transitional cell carcinoma, normal kidney, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 521-46421 | 0546121 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Liver 1 | hepatocellular carcinoma, adenocarcinoma, cholangiocellular carcinoma, normal liver, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 528-46431 | 0546131 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Lung 1 | adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, adenosquamous carcinoma, normal lung, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 525-46441 | 0546132 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Lung 2 | branchioloalveolar carcinoma, small cell carcinoma, large cell carcinoma, normal lung, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 522-46451 | 0546161 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Ovary 1 | clear cell adenocarcinoma, cystadenocarcinoma, cystodenuma, normal ovary, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 529-46461 | 0546162 | Single Tumor Tissue Multi Sample-Ovary 2 | thecoma, teratoma, malignant brenner tumor, normal ovary, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 526-46471 | 0546001 | Tumor Tissue Multi Type 1 | kidney, ureter, bladder, testis, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 523-46481 | 0546002 | Tumor Tissue Multi Type 2 | ovary, fallopian tube, uterus, breast, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 520-46491 | 0546003 | Tumor Tissue Multi Type 3 | esophagus, stomach, small intestine, colon, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 523-46501 | 0546004 | Tumor Tissue Multi Type 4 | parotid, gallbladder, liver, rectum, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 520-46511 | 0546005 | Tumor Tissue Multi Type 5 | adrenal, tonsil, thyroid, thymus, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| 527-46521 | 0546006 | Tumor Tissue Multi Type 6 | brain, kidney, liver, lung, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556901 | Alzheimer's Disease Tissue-Brain 1 | frontal lobe, occipital lobe, parietal lobe, normal brain, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556902 | Alzheimer's Disease Tissue-Brain 2 | temporal lobe, hippocampus, amygdala, normal brain, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556903 | Alzheimer's Disease Tissue-Brain 3 | corpus callosum, pons, cerebellum, normal brain, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556801 | Liver Cirrhosis Disease Tissue 1 | heart, brain, kidney, liver, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556802 | Liver Cirrhosis Disease Tissue 2 | lung, pancreas, spleen, colon, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556701 | Lupus Disease Tissue 1 | heart, brain, kidney, liver, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| | 0556702 | Lupus Disease Tissue 2 | lung, pancreas, spleen, skeletal muscle, normal placenta | 1個 | 105,000 |
| Mouse / Rat / Monkey | | | | | |
| | 0536001 | Mouse Tissue 1 | heart, brain, kidney, liver, human placenta | 1個 | 84,000 |
| | 0536002 | Mouse Tissue 2 | lung, pancreas, spleen, skeletal muscle, human placenta | 1個 | 84,000 |
| | 0566001 | Rat Tissue 1 | heart, brain, kidney, liver, human placenta | 1個 | 84,000 |
| | 0566002 | Rat Tissue 2 | lung, pancreas, spleen, skeletal muscle, human placenta | 1個 | 84,000 |
| | 0576001 | Monkey (Simian) Tissue 1 | heart, brain, kidney, liver, human placenta | 1個 | 84,000 |
| | 0576002 | Monkey (Simian) Tissue 2 | lung, pancreas, spleen, skeletal muscle, human placenta | 1個 | 84,000 |

他に種々のヒト組織由来の Total RNA ノーザンプロット、Total RNA ドットプロット、cDNA、Total RNA、mRNA、タンパク質、パラフィン包埋切片なども取揃えております。

迅速・簡便なタンパク質の定量キット

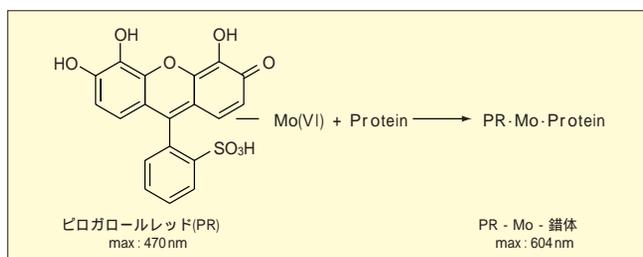
Protein Assay Rapid Kit *wako*

生化学分野において、タンパク質の濃度を測定することは基本的な技術の一つです。タンパク質の精製の確認をしたり、試料中のおおよそのタンパク質の量を測定するなど、幅広い分野において汎用される手法です。定量法として、チロシンとトリプトファン側鎖に由来する UV 吸収域の吸光を測定する UV 法や、タンパク質が色素と結合する事により、吸収ピークがシフトし、その吸光度変化を測定する比色法などが知られています。しかし従来の方法では試験管、ガラス器具などへの汚染等多数の問題がありました。

本キットはピロガロールレッド (PR) を色素に用い比色法を基本原理として開発されたピロガロールレッド-モリブデン錯体発色法による測定キットです。使い勝手が良く、ルーチンで行われるタンパク質の定量にお使い頂けます。

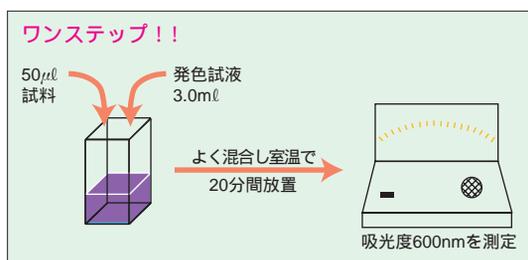
〔反応原理〕

PR がモリブデン酸と結合し、470nm に極大吸収を持つ赤色錯体を形成します。この錯体は酸性下でタンパク質と結合すると波長がシフトし青紫色 (604nm) を呈します。600nm 付近の吸光度を測定する事により、試料中の総タンパク質を求めます。

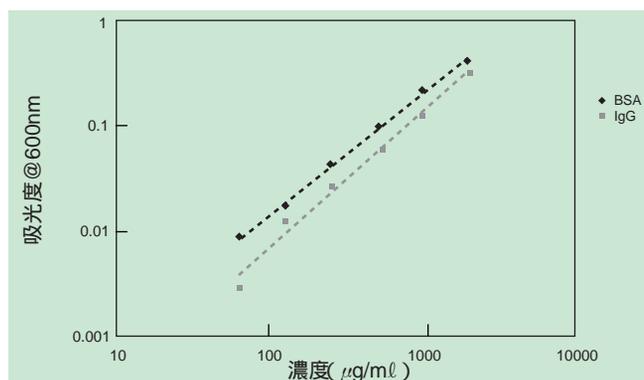


〔操作概要〕

1. 50 μ l の試料と発色試液 3.0ml をよく混合する。
2. 室温で 20 分間放置。
3. 吸光度 600nm を測定。
4. 検量線より試料のタンパク質濃度を算出。



〔セル法による検量線の例〕



〔共存物質の影響〕

BSA を標品にした時、共存物質の影響は無添加の場合の吸光度の $\pm 10\%$ 以内であることを確認しています。

| 共存物質の影響 | 物質名 | 濃度 | 物質名 | 濃度 |
|---------|--------------------------------------|----------------|---------------------------------|------|
| | Ammonium Sulfate | 1M | Mercaptoethanol | 1M |
| | DTT | 1M* | MES | 0.7M |
| | EDTA | 0.1M | MOPS | 0.2M |
| | EGTA | 0.05M | NaCl | 4M |
| | Fructose | 100 μ g/ml | NaOH | 0.1M |
| | Glucose | 100 μ g/ml | Phosphate 1Na·2H ₂ O | 1M |
| | Glutathione | 500 μ g/ml | PIPES | 0.5M |
| | Glycerol | 99% | SDS** | |
| | Glycine | 0.1M | Sodium Azide | 0.2% |
| | Guanidine-HCl | 0.5M | Sucrose | 40% |
| | HEPES | 0.1M | Triton X-100 | 0.1% |
| | HCl | 1M | Tris | 2M |
| | KCl | 1M | Tween 20 | 0.1% |
| | MgCl ₂ ·6H ₂ O | 1M | Urea | 6M |

* DTT (0 ~ 1M) が試料液中に共存している場合、お使いになるタンパク質の種類、もしくは濃度 (特に高濃度のタンパク質) によっては発色試液を添加した際、徐々に凝集反応を起こし、白色沈澱が生じることがあります。

** 本キットは SH 保護基 (特に SDS) の影響を受けやすい傾向があります。SDS で詳細に阻害の影響を検討した結果、0.02% の SDS 濃度下でブランク値より $\pm 20\%$ 以内の精度を確認しました。

| コード No. | 品名 | 規格 | 包装 | 希望納入価格(円) |
|-----------|-------------------------------------|----------|--------|-----------|
| 293-56101 | Protein Assay Rapid Kit <i>wako</i> | タンパク質定量用 | 100 回用 | 4,000 |
| 299-56103 | | | 400 回用 | 11,000 |

HPLC 法によるビスフェノール A とノニルフェノールの分析

和光純薬工業株式会社 大阪研究所 上森 仁志

私達の身の回りには人為的に作り出された様々な有害化学物質が存在し、長期的な暴露により人間の健康および生態系への影響が懸念されている。環境庁は1998年5月に「外因性内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について」(環境ホルモン戦略計画 SPEED '98)を発表し、汚染の実態調査、試験研究の推進を図るなどの取組みについて示すとともに、1998年8-9月に建設省と共同で第1次全国実態調査を実施し、同年10月に、暫定的な分析法が日本環境化学会より開示された。上記の調査結果から、ビスフェノール A とノニルフェノールはフタル酸ジ-2-エチルヘキシル、17-β-エストラジオールとともに検出率の高い化合物として位置付けられた。分析法からみれば、ほとんどの化合物が液液抽出あるいは固相抽出により抽出・濃縮後、GC/MS により測定されているが、本報では HPLC 法による迅速分析法について検討を行ったので報告する。筆者らは、先にゴルフ場使用

農薬分析用として固相抽出カートリッジカラム:Presep-C Agri(Short)と分析用カラム:WakopakWS-Agri-9を開発した。これらカラムの特長は、極性が大きく異なる化合物をより穏和な条件で溶出、あるいは分離できるように設計されている点にあり、今回のように、化合物の極性が極端に異なるビスフェノール A とノニルフェノールの分析には最適となった。水道水にビスフェノール A とノニルフェノールをそれぞれ 4.0μg/l の濃度で添加し、Presep-C Agri(Short)により250倍濃縮を行った後、HPLC で分析した。その時の固相抽出条件を図1.に、また HPLC 分析例を図2.に示した。この際、固相抽出の溶出溶媒にはアセトニトリルが使用でき、添加回収率は、ビスフェノール A で98%、ノニルフェノールで80%であった。HPLC 法は GC/MS 法に比べ、濃縮後

の脱水操作やビスフェノール A の TMS 化処理が不要であるなどの利点があり、今後、LC/MS の普及と相まって利用度が高まるものと考えている。

現在、低濃度検体の前処理効率の検討と、セミマイクロカラムを使用する高感度分析や LC/MS への適応を検討中である。

固相抽出カラム
Presep-C Agri(Short)

抽出条件
検水調製:1M HCl で pH 3.5 に調整

固相抽出カラムコンディショニング:
① CH₃CN 3ml
② H₂O 3ml

検水の通液:250ml

洗 浄:5% CH₃OH 3ml

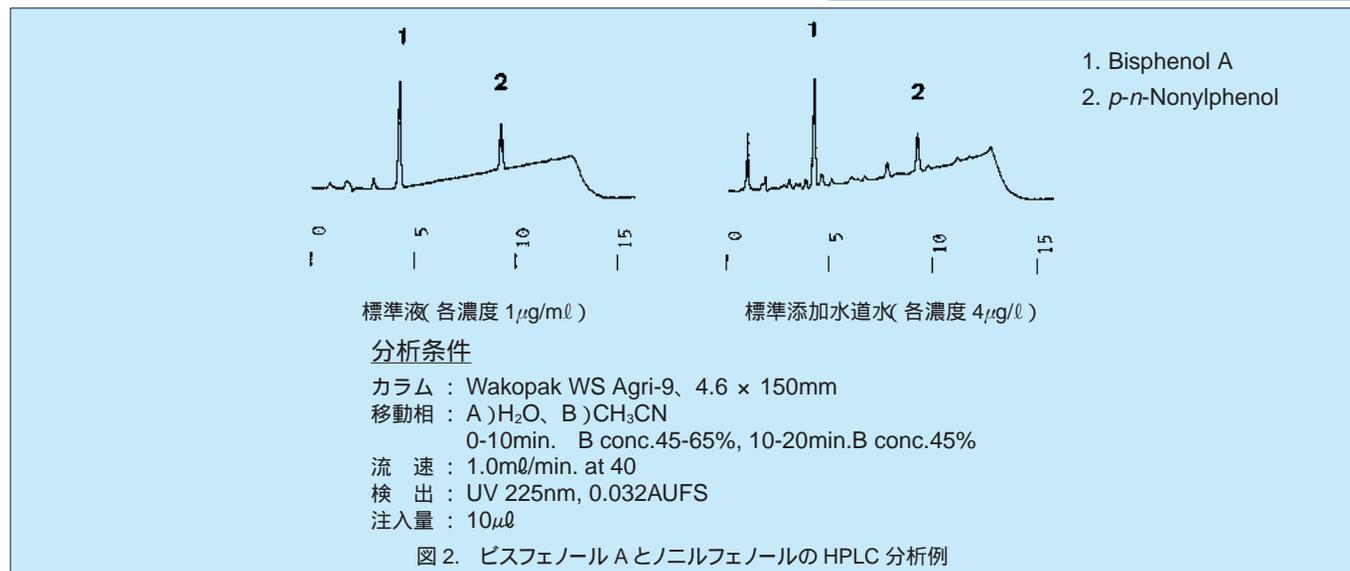
溶 出:CH₃CN 6ml

濃 縮:N₂ 気流下で濃縮(約 0.2 ~ 0.3ml)

再溶解:CH₃CN で 1ml にメスアップ

HPLC 10μl

図 1. フェノール類の固相抽出条件



〔関連商品〕

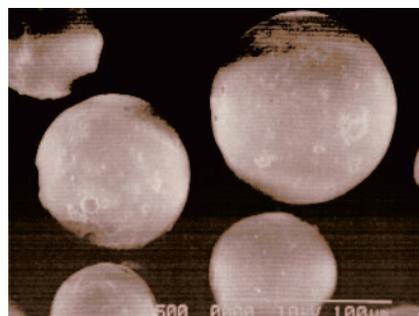
| コード No. | 品 名 | 規 格 | 容 量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---------------------------------|--------|---------|-----------|
| 296-32651 | Presep®-C Agri(Short) | 試料前処理用 | 10個×5/箱 | 38,000 |
| 001-00030 | Wakopak® WS Agri-9 4.6φ × 150mm | HPLC 用 | 1本 | 68,000 |
| 025-13541 | Bisphenol A Standard | 環境分析用 | 500mg | 4,500 |
| 146-06791 | p-n-Nonylphenol Standard | 環境分析用 | 500mg | 10,000 |

ワコーシル® C-200, C-300

カラムクロマトグラフ用

本品は安価な分取用球状シリカゲルです。破碎状シリカゲルに比べて、流動特性に優れており取扱いが容易です。カラムクロマトグラフ用として、大スケールでの精製・分取を行う際に最適です。

サンプル包装を用意しておりますのでご請求下さい。



分取用球状シリカゲル

〔物性・規格〕

| | ワコーシル® C-200 | ワコーシル® C-300 |
|------|----------------------|------------------|
| 細孔径 | 6nm | |
| 細孔容積 | 0.75ml/g | |
| 比表面積 | 475m ² /g | |
| 外 観 | 白色の微粒 | 白色の粉末 |
| 粒 度 | 64 ~ 210μm:80% 以上 | 40 ~ 64μm:80% 以上 |
| | 64μm 以下:10% 以下 | 40μm 以下:10% 以下 |
| | 210μm 以上:5% 以下 | 64μm 以上:5% 以下 |
| 沈降容積 | 1.5 ~ 1.8ml/g | |
| 乾燥減量 | 5.0% 以上 10% 未満 | |

| コード No. | 品 名 | 容 量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------------|------|-----------|
| 230-01665 | Wakosil® C-200 | 500g | 5,000 |
| 238-01661 | | 2kg | 15,000 |
| 236-01667 | | 10kg | 照 会 |
| 237-01675 | Wakosil® C-300 | 500g | 7,000 |
| 235-01671 | | 2kg | 20,000 |
| 233-01677 | | 10kg | 照 会 |

〔関連商品〕

破碎状シリカゲル

スタンダードタイプ

| コード No. | 品 名 | 容 量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------------|------|-----------|
| 230-00065 | Wakogel® C-100 | 500g | 4,400 |
| 238-00061 | | 2kg | 12,600 |
| 236-00067 | | 10kg | 照 会 |
| 237-00075 | Wakogel® C-200 | 500g | 4,400 |
| 235-00071 | | 2kg | 12,600 |
| 233-00077 | | 10kg | 照 会 |
| 234-00085 | Wakogel® C-300 | 500g | 4,400 |
| 232-00081 | | 2kg | 12,600 |
| 230-00087 | | 10kg | 照 会 |

ハイグレードタイプ

| コード No. | 品 名 | 容 量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|------------------|------|-----------|
| 238-01465 | Wakogel® C-300HG | 500g | 4,700 |
| 236-01461 | | 2kg | 13,600 |
| 234-01467 | | 10kg | 照 会 |
| 235-01475 | Wakogel® C-400HG | 500g | 4,500 |
| 233-01471 | | 2kg | 13,000 |
| 231-01477 | | 10kg | 照 会 |
| 232-01485 | Wakogel® C-500HG | 500g | 4,500 |

エコノミータイプ

| コード No. | 品 名 | 容 量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|-----------------|------|-----------|
| 236-01427 | Wakogel® C-100E | 10kg | 照 会 |
| 233-01437 | Wakogel® C-200E | 10kg | 照 会 |
| 230-01447 | Wakogel® C-300E | 10kg | 照 会 |

10kg 包装の価格につきましては当社代理店・特約店にお問合わせ下さい。



エーザイ株式会社

ビタミン E 定量用試薬

平成 11 年 4 月 6 日に厚生省告示第 116 号で食品添加物公定書第七版が公布されました。今回の第七版改訂の試薬・試液の項目で、「定量用 *d*-α-トコフェロール」、「定量用 *d*-β-トコフェロール」、「定量用 *d*-γ-トコフェロール」、「定量用 *d*-トコフェロール」が新たに設けられました。これらの規格を充たす標準試薬セットとして、「ビタミン E 定量用標準試薬」を新発売しました。

| コード No. | 品 名 | 包 装 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------------|-------|-----------|
| 302-07111 | ビタミン E 定量用標準試薬 | 1 セット | 40,000 |

「ビタミン E 同族体セット」をご愛用いただいているお客様へ：

ビタミン E 同族体セットは、食品添加物公定書第七版の規格を充たし、「ビタミン E 定量用標準試薬」として生まれ変わりました。

〔関連商品〕 タマ生化学株式会社

生体内等のビタミン E の定量に使用される内標準物質「トコール」も同時発売しました。

| コード No. | 品 名 | 包 装 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------------------|-------|-----------|
| 303-06921 | <i>d</i> -トコール(97+%) | 250mg | 36,000 |

| 〔内 容〕 | | | |
|--|-------|-------|-----|
| 定量用 <i>d</i> -α-トコフェロール | ... | 250mg | 1 本 |
| 定量用 <i>d</i> -β-トコフェロール | ... | 250mg | 1 本 |
| 定量用 <i>d</i> -γ-トコフェロール | ... | 250mg | 1 本 |
| 定量用 <i>d</i> -トコフェロール | ... | 250mg | 1 本 |
| PMC | | 250mg | 1 本 |
| (2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-hydroxychroman) | | | |

第 38 話 非特異的濁り

前回、リムルス試薬(LAL)の活性化における、正常な反応タイムコースについて考えました。今回は、正常でない反応タイムコースについて考えてみましょう。

前回考えたように、正常な反応タイムコースは、ラグを持つシグモイド型の曲線になると考えられます。従って、反応タイムコースにラグがない場合や正常な場合と逆のシグモイド曲線になる場合は、正常でない判断できます。実際にトキシノメーターで観察される正常でない反応タイムコースを、筆者らは「非特異的濁り」と呼んでいます。図1の青は非特異的濁りの例です。非特異的濁りがどのようなときに起こるのかは明かではありません。トキシノメーターの原理から考えて、濁った試料の測定自体に大きな問題があるわけではなく、試料と試薬を混合した後、濁度変化がなければ、かなり濁った試料でも測定が可能です。すなわち、非特異的濁りは、濁った試料特有のものではなく、試料と試薬を混合し

測定を開始した後に濁度が増加すると、非特異的濁りが観察される現象と考えられます。血漿検体の場合、血液中の反応阻害因子を不活性化するため、前処理を行います。筆者らは、界面活性剤希釈加熱法を前処理法として使用していますが、血漿中のIgG濃度が6000 mg/dl程度以上になると、非特異的濁りが認められます。血中のIgGがこれほど高くなる例はそれほど多くないので、実用上はそれほど問題がありませんが、非特異的濁りを確実に観察できる検体という点ではおもしろい存在です。血漿検体の場合は、熱変性した血漿蛋白(特に免疫グロブリン)が試薬との混合で不溶物を作りやすくなると考えています。その他、pHの変化なども不溶物を作る原因となる場合がありますから注意が必要です。

非特異的濁りを生ずる試料にエンドトキシンが入っている場合、その反応タイムコースは、非特異的濁りにエンドトキシンの反応が加わった形となります。図1の紫及び赤は、非特異的濁りの認められる試料にエンドトキシンを添加したものです。非特異的濁りに加えて、エンドトキシンによる正常の反応が認められます。

もし、非特異的濁りに遭遇してしまったり、どのような解決法があるでしょう。まず、非特異的濁りの程度が小さく、反応の早い時期で終わるものなら、反応の観測開始時間(Wait time)を延長する方法があります。トキシノメーターには Wait time を変更する機能があり、これを利用します。すなわち、非特異的濁りがマスクされるまで Wait time を延長し、その条件でエンドトキシン濃度の算出を行う方法です。

また、試料を希釈する方法もあります。試料を希釈することにより、非特異的濁りの程度が小さくなりますから、非特異的濁りが測定に影響なくなるまで希釈し、エンドトキシン測定の感度が下がる分、測定時間を長くします。

これらの方法は、非特異的濁りが生じたすべての場合に解決策になるとは限りません。Wait time を延長する方法は、非特異的濁りの程度が大きく、エンドトキシン量が少ないときには適用できませんし、希釈法はエンドトキシンの濃度が少ない場合、感度不足になってしまう危険性があります。従って、現在のところ、測定時の反応タイムコースをよく観察し、非特異的濁りが生じているか、エンドトキシンが存在するのかを推定し、その対策を考える必要があります。このような反応タイムコースの判別は、日常タイムコースを見慣れた人なら簡単にできると思います。将来的には機器の進歩により自動的に正常な反応のみを計測できるようになるかもしれませんが、当分の間は人間の観察力に期待するしかないようです。

今回は「第 39 話 非特異反応の観察方法」の予定です。

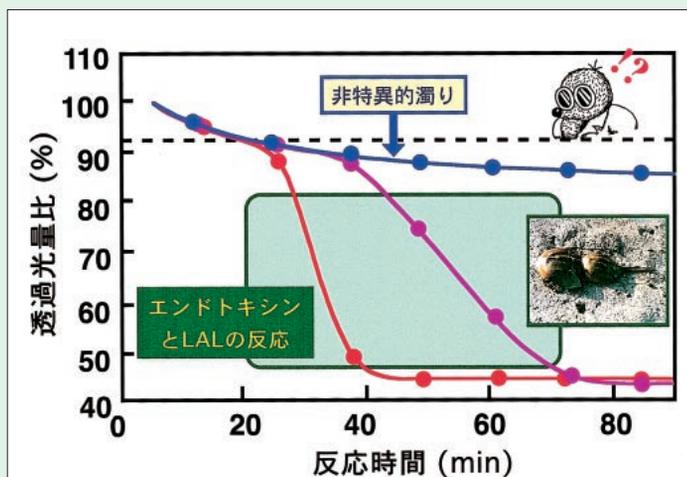


図 1. 非特異的濁りを生ずる試料にエンドトキシンを添加したときの反応タイムコース

●, 試料のみ; ●, エンドトキシン(0.006 EU/ml)添加;
●, エンドトキシン(0.03 EU/ml)添加

リムルステストチューブ-S(アルミキャップ付)(エンドトキシンフリー) エンドトキシン検出用

本品は、マルチタイプのLAL等試薬(下記関連商品)を用いて、リムルス試験を行う際使用する、トキシノメーターシングルモジュール用のアルミ

キャップ付試験管です。
10本ずつアルミに包装され、エンドトキシンフリーですので直ちに使用できます。

292-32751 10本×8 16,000円

[関連商品]

リムルステストチューブ-S(アルミキャップ付)を必要とする関連試薬・機器

| コード No. | 品名 |
|-----------|------------------|
| 297-51501 | SLP 試薬セット |
| 290-21941 | リムルス J テストワコー |
| 296-22141 | リムルス HS-J テストワコー |
| 298-22341 | カプトガニ血球抽出物 J |
| 294-22441 | カプトガニ血球抽出物 HS-J |
| 291-52501 | リムルス F テストワコー |
| 293-52701 | リムルス HS-F テストワコー |

| コード No. | 品名 |
|-----------|---------------------------------|
| 298-52511 | カプトガニ血球抽出物 F |
| 290-52711 | カプトガニ血球抽出物 HS-F |
| 291-25751 | トキシノメーター ET-301 コントロールモジュール |
| 299-28351 | トキシノメーター ET-301BL アナリシス-S モジュール |
| 298-12951 | トキシノメーター ET-201 コントロールモジュール |
| 294-13151 | トキシノメーター ET-201 アナリシス-S モジュール |



ELISA 可能な IgE 抗体

抗ヒト IgE モノクローナル抗体

ヒト血漿より精製した IgE を抗原とし、マウスに免疫して得られたモノクローナル抗体で、ELISA やイムノブロットティングに使用できます。また、本抗体を捕捉抗体とし、市販の抗ヒト IgE 抗体を検出抗体とすることによって、サンドイッチ ELISA を行うこともできます。

免疫原: ヒト血漿由来 IgE
サブクラス: マウスモノクローナル抗体 IgG₁
精製法: ハイブリドーマを移植したマウス腹水より硫酸沈殿及びプロテイン G アフィニティカラムにて精製
形状: 凍結乾燥

特異性: ヒト IgE 及びヒト鎖を認識する

使用濃度:
ELISA 捕捉抗体として 1µg/ml
ELISA 検出抗体として 0.5µg/ml
イムノブロットティング 0.5µg/ml

| コード No. | 品名 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|-------|-----------|
| 305-07721 | Anti Human IgE, Monoclonal Antibody (Clone No.4D3) | 200µg | 35,000 |



乳酸菌の同定に

抗乳酸菌モノクローナル抗体

本抗体は右記の各乳酸菌を抗原とし、マウスに免疫して得られたモノクローナル抗体で、ELISA やイムノブロットティング、菌種の同定に使用できます。

免疫原及びサブクラス:

| 免疫原 | クローン | サブクラス軽鎖 |
|---------------------|---------|------------------|
| <i>L. brevis</i> | 45w-1C6 | IgG ₁ |
| <i>L. casei</i> | 72-6D2 | IgG ₁ |
| <i>L. plantarum</i> | 55-1C3 | IgG ₁ |

精製法: ハイブリドーマを移植したマウス腹水より硫酸沈殿及びプロテイン G アフィニティカラムにて精製

形状: 凍結乾燥

使用濃度: ELISA、イムノブロットティング 0.5µg/ml

特異性: 抗 *L. brevis*、抗 *L. casei* は、それぞれ免疫原と同じ種類の菌とのみ反応、抗 *L. plantarum* は、*L. plantarum* と *L. coryniformis* の 2 種類の菌と反応し、他の菌種とは反応しない。

| コード No. | 品名 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---|-------|-----------|
| 302-07731 | Anti <i>Lactobacillus brevis</i> , Monoclonal Antibody | 100µg | 25,000 |
| 309-07741 | Anti <i>Lactobacillus casei</i> , Monoclonal Antibody | 100µg | 25,000 |
| 306-07751 | Anti <i>Lactobacillus plantarum</i> , Monoclonal Antibody | 100µg | 25,000 |

第9話 プログラム細胞死と疾患

アポトーシスに代表されるプログラム細胞死は組織・細胞の恒常性維持や、ウイルスなどの侵襲によって傷害を受けた細胞の排除などを司る生体防御機構として重要な役割を果たしている。したがってプログラム細胞死の制御機構の乱れは、がんを含めた種々の疾患の発生原因となる。

アポトーシス制御の乱れが原因となる疾患には、例えば Fas の変異によって未分化な T 細胞が産生されることで惹起される ALPS (自己免疫性リンパ増殖症候群) や、FasL の発現を伴うリンパ球によって移植臓器が侵襲されることによって生じる GVHD (移植片対宿主病) をはじめ、全身性エリテマトーデスや慢性関節リュウマチなどの免疫性疾患がある。また死亡率一位の座を占めるがんはアポトーシスが不必要に抑制された結果生じる疾患であると考えられる。がんの発生には複数の遺伝子の変異の蓄積とそれら変異遺伝子産物の協調的な機能発現が要求される。一般に遺伝子変異を起こした細胞のうち、生体のもつ修復能力を越えた遺伝子変異をもつ細胞はアポトーシスによって排除されるはずである。しかし中には更なる遺伝子変異を起こし、アポトーシス耐性能を獲得し、分裂・増殖を継続して行うものがでてくる。これら生き残った細胞の中からがん細胞が生まれ、腫瘍が形成される。例えばアポトーシス抑制因子 Bcl-2 の高発現による B 細胞性リンパ腫の発生や、アポトーシス促進因子 Bad の不活化に関与する Akt の高発現による T 細胞性リンパ腫の発生などが典型的な例である。このように多くのがんはアポ

トーシス耐性能を獲得していると考えられ、このことが抗癌剤に対する感受性の低下や、予後の悪さを惹き起こす大きな原因となっている。

一方脳梗塞やハンチントン病、アルツハイマー病、ALS (筋萎縮性側索硬化症) といった、神経細胞の死が原因して生じる疾患についてもこれまでアポトーシスがその主な原因であると考えられてきた。しかしここに至ってプログラム細胞死にネクローシス様細胞形態を伴う細胞死が存在することが示され、これら一連の神経変性疾患がネクローシス様細胞死によって惹起されるのではないかと考えられるようになってきた。

例えばヒトのアルツハイマー病の場合、この疾患がアポトーシスによる神経細胞の変性によって惹起されるとの考えに基づいてこれまでその証拠探しに精力的に行われてきた。しかし未だにアポトーシスの実行因子であるカスパーゼの関与を示すような決定的な証拠が見つからず、アポトーシスとの因果関係を明確にできるだけのデータが見いだせないでいる。またアルツ

ハイマー病の病理学的特徴として記載されている神経細胞の変性所見が顆粒空胞変性と呼ばれるもので、明らかにアポトーシスと異なっていることも結論を出せない理由の一つになっている。同様にパーキンソン病においても、神経細胞がアポトーシスに加えて autophagic degeneration によると思われる変性像を示すことや、伸長ポリグルタミン鎖をもつアタキシン 3 (脊髄小脳変性疾患の原因因子) を神経細胞内で発現させると細胞内での空胞化を伴うネクローシス様の細胞死が誘導されることが報告されている。このような観察結果をもとにアルツハイマー病やパーキンソン病、ALS などの神経変性疾患がアポトーシスによるものではなく、非アポトーシス性のネクローシス様細胞死によるものではないかとする考え方がここに至って俄然有力になってきた。

ネクローシス様細胞死では細胞質の緩やかな膨化現象は認められるものの、アポトーシスと異なり核やミトコンドリアには大きな形態変化がなく、多くの場合細胞質内での活発な空胞

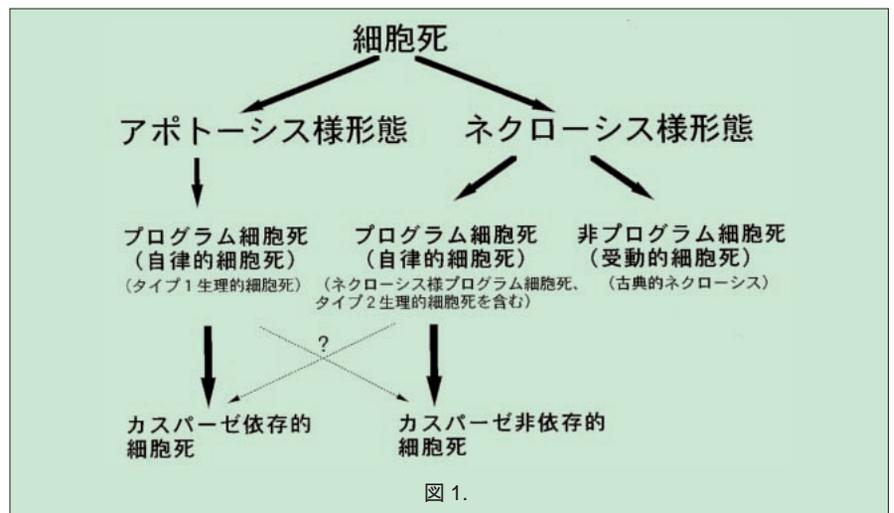


図 1.

表1. 生理的細胞死の形態学的特徴に基づく分類

| | タイプ1 (apoptosis) | タイプ2 (autophagic degeneration) | タイプ3 (Non-lysosomal disintegration) |
|-------|----------------------------------|--|---|
| 核 | 核の凝縮 顕著なピクノーシス | 時にピクノーシスが見られるが顕著ではない | 後期に崩壊 |
| 細胞質 | 容積の減少 | 多数の自喰空胞 | 全般的な崩壊、細胞内小器官の拡張 |
| 終末像 | 断片化し、周辺細胞によるどん喰を介して迅速に処理される | 断片化し、後に周辺細胞によりどん喰処理されることもある | 非常に細かい断片に断片化し、周辺細胞によるどん喰処理はみられない |
| 頻度・部位 | しばしばみられる細胞死のタイプで、孤立した状態でおきることが多い | しばしばみられる細胞死のタイプで、細胞がまとまって脱落する状況でおきるが多い | 稀、空胞化軟骨細胞でのみ確認されている |

この表は Schweichel, Merker, Clarke, Zakeri らの論文に基づき、生理的細胞死の3つのタイプの特徴的所見をまとめたものである。

形成が認められるのが特徴である。面白いことにこれら細胞形態は Type II cell death や autophagic degeneration と呼ばれている生理的細胞死の特徴と一致している（この分類によればアポトーシスは Type I cell death に相当する（図1, 表1））。このことはネクローシス様細胞死がアポトーシスとは異なったメカニズムで誘導制御されているということを示唆している。しかしこれまでネクローシス様細胞死に関する適当な実験系がなかったこともあってこの細胞死の分子機構に関する

情報はほとんどえられていない。先に述べた神経変性疾患発症の機構を解明するためにも適当な実験系の開発が望まれるところであるが、この点に関して最近著者らが Ras の発現によってヒトがん細胞にネクローシス様細胞死が誘導されることを見いだした。現在その系を用いてネクローシス様細胞死の実態解明にむけた研究が著者らを中心に精力的に行われている。

〔参考文献〕

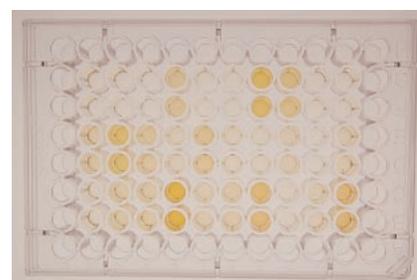
- 1) S. Chi, C. Kitanaka, K. Noguchi, T. Mochizuki, Y. Nagashima, M. Shiro-uzu, H. Fujita, M. Yoshida, W. Chen, A. Asai, M. Himeno, S. Yokoyama and Y. Kuchino. Oncogenic Ras triggers cell suicide through the activation of a caspase-independent cell death program in human cancer cells. *Oncogene* 18, 2281-2290 (1999)
- 2) C. Kitanaka and Y. Kuchino. Caspase-independent programmed cell death with necrotic morphology. *Cell Death & Differ.* 6, 508-515 (1999)

ドラッグスクリーニングに
Apoptosis Screening Kit wako

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し、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すべて揃っており、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〕

- 操作が簡便
- 各ステップの主な反応試薬をすべてセット化、操作が簡便
- 迅速
- 操作時間は約3時間
- 10⁴個の細胞に含まれる10³個以上のアポトーシス細胞を検出



291-55801 96回用 46,000円

アポトーシス研究試薬

TRAIL

腫瘍細胞の壊死を誘導することから名付けられたカケクチンの本体である TNF ファミリー、細胞にアポトーシスのシグナルを発信する FasL、そして最近その作用機序が明らかにされた第 2 のアポトーシス誘導システム TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) は、現在 TNF スーパーファミリーに属していることが明らかにされています。

TRAIL は、リンパ球他、様々な細胞に発現していることが解明され、細胞の維持とメカニズムの関連でホットな研究が進められています。

この度、組換え体 TRAIL、TRAIL 抗体、TRAIL レセプター 1/DR4 (Death domain containing receptor) 抗体を商品化しましたので御案内します。

Anti Human TRAIL/Apo2L, Rabbit

免疫化学用

免疫原: ヒト TRAIL/Apo2L 組換え体
 形状: 凍結乾燥品 (プロテイン A で精製した PBS 溶液から凍結乾燥)

特異性: ヒトの TRAIL/Apo2L を認識します。

溶解法: 水で $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 濃度に溶解します。

実用希釈倍率:

ELISA 1:1,000
 ウェスタンブロット 1:1,000

019-17781 500 μg 39,000 円

Anti Human TRAIL-R1/DR4 C-terminus, Rabbit

免疫化学用

免疫原: ヒト TRAIL-R1/DR4 C 末端 (アミノ酸残基 427~445)

形状: PBS 凍結品 (100 $\mu\text{g}/200\mu\text{l}$ 、精製した IgG 分画)、0.02% アジ化ナトリウム含有

特異性: ヒトの TRAIL-R/DR4 を認識します。

実用希釈倍率:

ウェスタンブロット 1:500

016-17791 100 μg 49,000 円

TRAIL/Apo2L, Human, recombinant

生化学用

製法: ヒト、TRAIL/Apo2L の cDNA を組込んだ *E.coli* より生産。

形状: 凍結乾燥品 (安定剤不含)

エンドキシン値: 0.1ng/ μg 以下

分子量: 19.6kDa

生物学的活性: ED₅₀ 10ng/ml 以下 (PBMC による IL-8 の用量依存的刺激テスト)

溶解法: 水で $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 濃度に溶解します。

205-14841 50 μg 39,000 円

アンジオジェネシス研究試薬

ヒトの血管新生は、ホメオスタシスを維持するため、成人後は通常容易に形成されないよう調節されています。ところが固形がんは、正常細胞ではみられないほどの大量のプラス調節因子 (新生因子) を発現し血管新生を促進させ、自己組織に新たな血管を導き、細胞の維持、増殖に必要な酸素、栄養源を獲得しています。さらに、がん組織での血管ネットワークが完成すると、原発巣からがん細胞が流れ易くなり、これが血行性転移の要因となっています。腫瘍の周りにできる血管の形成を阻害する因子、及び促進する因子を研究することによってがん細胞の増殖・転移を防ぐことができるのではないかとこの可能性から、がん治療への応用が期待されています。

Angiostatin

Angiostatin, from Human

生化学用

由来: ヒト血漿製 (HIV、HCV、HBsAg 陰性)、プラスミン、プラスミノゲン は検出されません。

形状: 凍結乾燥品

分子量: 50kDa 付近に 2 つのバンドがみられます。

543-00941 1mg 90,000 円

Angiogenin

Angiogenin, Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*

形状: 凍結乾燥品 (フィルター滅菌済み、安定剤として BSA 含有)

分子量: 14kDa

生物学的活性:

酵母 tRNA に対する ribonucleolytic 活性を測定した時、本品 1 μg は 260nm における吸光度を 2.0 ~ 3.0 変化させます。

015-17901 50 μg 照会

[次頁へ続く]

Anti Human Angiogenin, Goat

免疫化学用

免疫源: ヒト Angiogenin 組換え体
 形状: 凍結乾燥品
 特異性: ヒトの Angiogenin を認識します。

实用希釈倍率:
 ELISA 1:1,000 ~ 1:2,000
 ウエスタンブロット 1:500 ~ 1:1,000

012-17911 100 μ g 照会

FGF

FGF(basic), Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*
 形状: 凍結乾燥品 (10mM Tris-HCl, pH 7.5、1mM DTT、2M NaCl 溶液より凍結乾燥)

エンドトキシン値: 0.1ng/ μ g 以下
 分子量: 16.5kDa
 生物学的活性:
 ED₅₀ 50pg ~ 100pg/ml (non

active BALB/c 3T3 cloneA31 細胞に AlamerBlue™ を用いた細胞増殖試験)

067-04031 25 μ g 照会

PDGF

PDGF-AA, Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*
 形状: 凍結乾燥品(安定剤不含)
 エンドトキシン値: 0.1ng/ μ g 以下
 分子量: 28.5kDa

有効使用濃度(*in vitro*):
 0.2 ~ 10.0ng/ml
 生物学的活性:
 ED₅₀ 1ng/ml 以下 (BALB/c

3T3 細胞の用量依存的チミジン取込み試験)

163-19731 10 μ g 39,000 円

PDGF-BB, Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*
 形状: 凍結乾燥品(安定剤不含)
 エンドトキシン値: 0.1ng/ μ g 以下
 分子量: 24.3kDa

有効使用濃度(*in vitro*):
 0.2 ~ 10.0ng/ml
 生物学的活性:
 ED₅₀ 1ng/ml 以下 (BALB/c

3T3 細胞の用量依存的チミジン取込み試験)

160-19741 10 μ g 39,000 円

PF-4

PF-4, Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*
 形状: 凍結乾燥品(安定剤不含)
 エンドトキシン値: 0.1ng/ μ g 以下
 分子量: 8kDa

生物学的活性:
 ポイデン試験において 50ng/ml でヒト線維芽細胞走化性が顕著に認められます。

167-19751 20 μ g 39,000 円

VEGF

VEGF, Human, recombinant

生化学用

産生: *E.coli*
 形状: 凍結乾燥品 (安定剤として BSA を本品 1 μ g あたり 50 μ g 添加しています。)

分子量: 38kDa
 有効使用濃度(*in vitro*):
 1.0 ~ 50ng/ml
 生物学的活性:
 ED₅₀ 1.0 ~ 100ng/ml (ヒト真

皮微小血管内皮細胞の細胞分裂促進活性)

223-01311 10 μ g 35,000 円

VEGF, Mouse, recombinant

生化学用

産生: *Baculovirus-infected insect cells*
 形状: 凍結乾燥品 (フィルター滅菌後 Tris/NaCl より凍結乾燥。安定剤不含)
 分子量: 46kDa

生物学的活性:
 細胞分裂活性化テストにおいて、1.0ng/ml ~ 5.0ng/ml でヒト妻帯静脈内皮細胞とウシ大動脈内皮細胞におけるチミジン取込み及び細胞増殖が観

察されます (ED₅₀ 1 ~ 2ng/ml に相当)。

224-01341 5 μ g 20,000 円

脳虚血による学習記憶障害とNO

北海道大学大学院 医学研究科 情報薬理学講座 富樫 広子、吉岡 充弘

脳虚血による学習記憶障害に関する研究は、種々の脳虚血モデルにおける学習記憶行動や、記憶に関連する長期増強現象 (long-term potentiation: LTP) を指標として進められてきた¹⁾。脳虚血による学習記憶障害は、警戒性 (alertness) や知覚運動能力 (sensory-motor capacity) 障害に比較して長時間持続し、遅発性細胞死との関連性が推測されている。実際、虚血に対して最も脆弱性を示す海馬 CA1 領域における錐体細胞数と放射状迷路試験で評価される学習障害との間には負の相関が認められる²⁾。しかし、そのような病理組織学的変化が認められない場合でも、海馬 LTP の障害が観察されることがある³⁾。

1991 年、Snyder ら⁴⁾が、一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase: NOS) 阻害薬が興奮性アミノ酸による神経毒性に対して保護的効果を示すことを報告して以来、虚血性脳障害における NO の役割が注目されてきた。一方、NO が学習記憶過程に重要な役割を果たしていることは、NOS 阻害薬によって海馬 LTP の形成や放射状迷路や水迷路試験で評価される学習記憶関連行動が障害されることから推測されてきた⁵⁾。すなわち、NO は正常時における記憶形成過程と脳虚血時における細胞障害性分子として記憶障害過程に関わる共通分子と考えられている。

NOS の isoform として、構成型 NOS (cNOS) である内皮型 (eNOS) と神経型 (nNOS) さらには誘導型 NOS (iNOS) が知られており、脳内にも部位特異性をもって分布する⁶⁾。海馬にみられる NOS 活性の 96% は nNOS に由来するといわれている。ノックアウトマウスでの実験によると、eNOS と nNOS のダブルノックアウトマウスで

は LTP 形成が著明に抑制され⁷⁾、eNOS 単独ノックアウトによって弱い高頻度刺激による LTP 形成は減弱する⁸⁾が、nNOS 単独ノックアウトマウスでは正常の LTP が観察され NOS 阻害薬に対する反応性も保たれている⁹⁾。それに対して、nNOS ノックアウトマウスでは脳虚血後の脳障害が減弱することから、脳虚血時には nNOS 由来の NO が細胞障害や機能不全に関与していることが推測されている¹⁰⁾。

一方、誘導型 NOS (iNOS) はリポポリサッカライド (LPS) などの細菌毒素や各種サイトカインに反応して、アストロサイトやミクログリアに誘導される。iNOS によって生成される過剰な NO は、神経毒性を発現することが報告されている¹¹⁾。両側海馬に LPS を注入して iNOS を誘導すると、NO 酸化代謝産物の著明な増加と Y 迷路試験における作業記憶障害が認められ、いずれも iNOS 阻害薬であるアミノグアニジンによって抑制される¹²⁾。脳虚血後においても、iNOS の mRNA や iNOS 蛋白が脳内に発現し、それによって産生される NO が脳障害性に働いている可能性が報告されている¹³⁾。脳虚血ラット海馬では NO 酸化代謝産物が増加し、iNOS 阻害薬であるアミノグアニジンを抑制する¹⁴⁾。また、同じ条件下で観察される海馬 LTP の障害もこの iNOS 阻

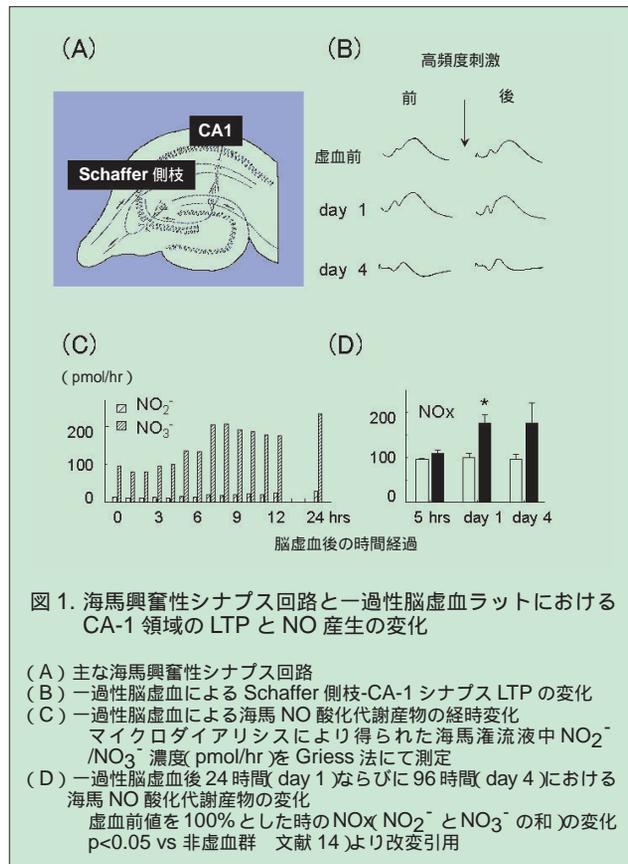


図1. 海馬興奮性シナプス回路と一過性脳虚血ラットにおける CA-1 領域の LTP と NO 産生の変化

(A) 主要な海馬興奮性シナプス回路
 (B) 一過性脳虚血による Schaffer 側枝-CA-1 シナプス LTP の変化
 (C) 一過性脳虚血による海馬 NO 酸化代謝産物の経時変化
 マイクロダイアリシスにより得られた海馬灌流液中 NO₂⁻/NO₃⁻ 濃度 (pmol/hr) を Griess 法にて測定
 (D) 一過性脳虚血後 24 時間 (day 1) ならびに 96 時間 (day 4) における海馬 NO 酸化代謝産物の変化
 虚血前値を 100% とした時の NOx (NO₂⁻ と NO₃⁻ の和) の変化
 p<0.05 vs 非虚血群 文献 14) より改変引用

害薬によって減弱する。これらの事実は、脳虚血後誘導される iNOS を介する NO 産生が学習記憶障害性に働いていることを示唆している。

脳虚血によってサイトカインを含む様々な遺伝子群が発現することが明らかにされており¹⁵⁾、虚血-再開通後の脳組織障害における役割が注目されている。たとえば、両側頸動脈閉塞-再開通後のラットでは海馬 CA1 領域での LTP 形成が障害されるが、これは炎症性サイトカインの一つである IL-1β 拮抗薬の側室内投与によって抑制される¹⁶⁾。炎症反応とともに産生されたサイトカインは、iNOS を誘導することが知られているが、iNOS 遺伝子活性化に至る細胞内情報伝達系に関しては不明の点が多い。

脳虚血時における NO は、学習記憶

形成の障害因子の一つとして位置づけられる。しかし、NO 産生に関わる NOS isoform は、虚血後の時間経過あるいは脳部位によって異なる可能性がある。また、他のラジカル分子種が脳虚血後の学習記憶障害に關与する可能性も否定できない。したがって、脳虚血後の NO 動態ならびに關与する NOS isoform を時間的・空間的観点から検討することは、脳虚血障害の治療戦略上、重要な意味を持つ。NO を含めた各種ラジカル分子種の高感度な assay 系ならびに NO isoform により選択的な阻害薬の開発が待たれる。

〔参考文献〕

1) Block, F. : Progress in Neurobiol., 58, 279 (1999)
 2) Kiyota, Y., Miyamoto, M. and Nagaoka, A. : Brain Res., 538, 295 (1991)

3) Mori, K., Yoshioka, M., Suda, N., Togashi, H., Matsumoto, M., Ueno, K. and Saito, H. : Brain Res., 795, 221 (1998)
 4) Dawson, V.L., Dawson, T.M., London, E.D., Bredt, D.S. and Snyder, S.H. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 6368 (1991)
 5) 山田清文 : 日薬理誌, 111, 87 (1998)
 6) Huang, P.L., Dawson, T.M., Bredt, D.S., Snyder, S.H. and Fishman, M.C. : Cell, 75, 1273 (1993)
 7) Son, H., Hawkins, R.D., Martin, K., Kiebler, M., Huang, P.L., Fishman, M.C. and Kandel, E.R. : Cell, 87, 1015 (1996)
 8) Wilson, R.I., Gödecke, A., Brown, R.E., Schrader, J. and Haas, H.L. : Neuroscience, 90, 1157 (1999)
 9) O'Dell T.J., Huang, P.L., Dawson, T.M., Dinerman, J.L., Snyder, S.H., Kandel, E.R. and Fishman, M.C. : Science, 265, 542 (1994)
 10) Huang, Z., Huang, P.L., Panahian, N., Dalkara, T., Fishman, M.C. and Moskowitz, M.A. : Science, 265, 1183 (1994)
 11) Gross, S.S., Wolin, M.S. : Annu. Rev. Physiol., 57, 737 (1995)
 12) Yamada, K., Komori, Y., Tanaka, T., Senzaki, K., Nikai, T., Sugihara, H., Kameyama, T. and Nabeshima, T. : Neuroscience, 88, 281 (1999)
 13) Iadecola, C., Zhang, F., Casey, R., Nagayama, M. and Ross, M.E. : J. Neuroscience, 17, 9157 (1997)
 14) Togashi, H., Mori, K., Ueno, K., Matsumoto, M., Suda, N., Saito, H. and Yoshioka, M. : Neurosci. Lett., 240, 53 (1998)
 15) Feuerstein, G.Z., Wang, X. and Barone, F.C. : Ann. NY Acad. Sci., 825, 179 (1997)
 16) Yoshioka, M., Itoh, Y., Mori, K., Ueno, K., Matsumoto, M., Togashi, M. : Neurosci. Lett., 261, 171 (1999)

sGC 阻害剤

NS2028 【4H-8-Bromo-1,2,4-oxadiazolo(3,4-d)benz(b)(1,4)oxazin-1-one】

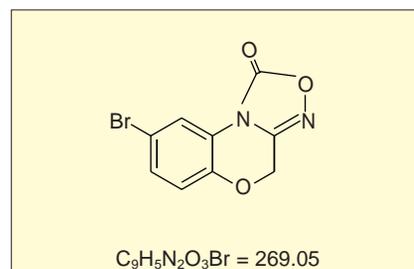
生化学用

NS2028 は、NO 感受性の可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) の選択的阻害剤です。YC-1 や CO でエンハンスされた sGC 活性は阻害しません。

〔規格〕

含量 : 98.0% 以上 (HPLC)
 外観 : 白色 ~ ほとんど白色、結晶性粉末 ~ 粉末
 融点 : 160~170

149-06921 5mg 16,000 円



sGC 活性化剤

YC-1 【3-(5'-Hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzylindazole】

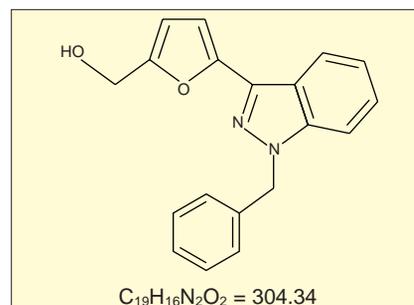
生化学用

YC-1 は、可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) の NO 非依存性、スーパーオキシド感受性活性化剤です。濃度依存的に sGC を直接活性化し、細胞内の cGMP 濃度を上昇させます。

〔規格〕

含量 : 98% 以上 (HPLC)
 外観 : 白色 ~ 黄色、結晶 ~ 粉末
 融点 : 110 ~ 113

253-00471 5mg 10,000 円



〔関連商品〕

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|-------|------|------------|
| 019-17801 | Anti sGC, Monoclonal Antibody (Clone No. 3221) | 免疫化学用 | 20µg | 30,000 |
| 017-18201 | Anti sGC, Monoclonal Antibody, NO insensitive (Clone No. 28131) | 免疫化学用 | 20µg | 30,000 |

新規カチオン性 SH 保護試薬 TAPS-sulfonate の 蛋白質工学への応用

大腸菌に生産させた SS 結合を持つ外来性タンパク質の精製と巻き戻し

岡山大学 工学部 生物機能工学科 山田 秀徳

1. はじめに

大腸菌による組換えタンパク質の発現システムは、取り扱いが容易で短時間に大量のタンパク質が得られることから、外来性タンパク質の生産手段として広く利用されている。しかし、ジスルフィド(SS)結合を持つタンパク質は、大腸菌内で発現させると通常は不活性なインクルージョンボディとなるため、活性構造に巻き戻さなければならない。一般にはインクルージョンボディを強い変性剤中で還元可溶化し、SH-SS 交換反応を触媒する適当な酸化還元系に希釈して巻き戻す。しかし、純粋なタンパク質は還元状態から効率よく巻き戻るのに、インクルージョンボディからだとうまくゆかないことが多い。これは酸化還元系に希釈したときに、インクルージョンボディ中の不純物が発現タンパク質を巻き込んで沈殿するためと考えられる¹⁾。そのためタンパク質によってはまず精製する必要がある。しかし、変性タンパク質は一般に水に溶けにくいので、その精製は相当面倒である。一方、すべてのSH基をアルキルスルフィド化した還元タンパク質は、還元タンパク質と同様、SH-SS 交換反応により活性構造に巻き戻すことができ、化学的にも安定なので取り扱いやすい。また、大きな正の実効電荷を持つ変性タンパク質は、変性剤を用いなくても水に溶ける可能性がある。我々はこのような観点から還元タンパク質のSH基のアルキ

ルスルフィド化と正電荷の導入が同時にできる TAPS-sulfonate (トリメチルアンモニオプロピルメタンチオスルホナート・プロミド)を開発した(式1)^{2,3)}。本稿では変性タンパク質にどの程度電荷を導入すれば水に溶けるのかという点も含めて、大腸菌に生産させた Cys 含有タンパク質の精製と巻き戻しにおいて、TAPS-sulfonate を有効に利用した例を紹介する。

2. 変性タンパク質の溶解度

我々は以前塩基性タンパク質であるニワトリリゾチームを還元後、8個のSH基をトリメチルアンモニオプロピル化(TAP化、式2)して正電荷を導入すると、変性リゾチーム(TAP-リゾチーム)が水によく溶けることを報告した⁴⁾。リゾチームには20種類のアミノ酸がすべて存在するため、この変性リゾチームはプロテアーゼの特異性を調べる基質⁵⁾として利用されている(商品名:還元リゾチーム、和光純薬工業株式会社)。そこでどの程度電荷を導入すれば変性タンパク質が水に溶けるのかを系統的に調べるために還元タンパク質(リゾチーム、RNaseA、BSA及び大豆トリプシンインヒビター)のSH基を種々の電荷を持つアルキル化試薬で修飾した⁶⁾。その結果、中性付近では、疎水性が大きいアミノ酸(Trp、Ile、Phe及びLeuの4種)1残基あたりの実効電荷の値(実効電荷/疎水性残基数)が+0.2以上なら変性

タンパク質は水によく溶けること、またpH3(カルボキシル基が電荷を失うpH)では、4級アミン(TAP基)を導入した変性タンパク質(上記値は+0.6以上)はすべて水によく溶けることがわかった⁶⁾。

3. TAPS-タンパク質の化学的安定性

SS結合を有するタンパク質を中性からアルカリ性で加熱すると、SS結合の解裂や組換えが起こるため不可逆的に変性する⁷⁾。このようにSS結合はSH基よりも安定とはいっても、アルカリには強くない。タンパク質の還元TAPS化は8M尿素や6Mグアニジン塩酸塩などの変性剤存在下、pH約8.5でメルカプトエタノールやDTT(SH基の濃度0.1M)で還元後、小過剰(SH基のモル数の約1.5倍)のTAPS-sulfonate(2M水溶液)を加えて行うので、反応終了時(約30分後)のpHはまだ高い。そこでリゾチームを用い、反応液をそのまま純水に対して4で透析して変性剤と試薬を除いた場合と、酢酸を加えてpHを4以下に下げた後から透析した場合について、得られたTAPS-リゾチームを逆相HPLCで分析したところ、pHを下げた場合はTAPS-リゾチームが純粋な形で90%以上回収されたが、pHを下げなかった場合は溶けてはいるものの、約50%の分子で一部のTAPS基が外れていることがわかった。従って



表 1. TAPS-sulfonate を利用した大腸菌生産組換え型タンパク質の精製と巻き戻し

| タンパク質 | 残基数 | | | TAPS 化後の電荷 (実効電荷 / 疎水基) | | 精製操作 |
|-------------|-----|-----|------------------|----------------------------|-----|---|
| | 総数 | Cys | 疎水基 ^a | pH3 | pH7 | |
| BTC | 81 | 8 | 8 | 2.8 | 1.3 | 菌を丸ごと還元 TAPS 化 ポリエチレンイミンを加え 10% 酢酸で抽出 濃縮 pH3 で透析 巻き戻し |
| RNase 4 | 120 | 8 | 15 | 2.1 | 1.1 | インクルージョンボディを還元 TAPS 化 10% 酢酸で抽出 濃縮 pH3 で透析 巻き戻し |
| BDNF | 120 | 6 | 16 | 1.8 | 1.0 | インクルージョンボディを還元 TAPS 化 カチオン交換 FPLC(6M 尿素, pH7) 巻き戻し |
| ECP | 134 | 8 | 23 | 1.4 | 1.0 | インクルージョンボディを還元 TAPS 化 ポリエチレンイミンを加え 10% 酢酸で抽出 濃縮 水に対して透析 巻き戻し |
| His-tag-EDN | 154 | 8 | 20 | 1.7 | 0.9 | インクルージョンボディを還元 TAPS 化 10% 酢酸で抽出 水に対して透析 Ni アフィニティクロマトグラフィ N 末端 プロセッシング 巻き戻し |
| CR-1 | 153 | 13 | 27 | 1.3 | 0.7 | インクルージョンボディを還元 TAPS 化 10% 酢酸で抽出 濃縮 8M 尿素溶液 (pH 5) で透析 カチオン交換クロマトグラフィ (8M 尿素, pH 5) 逆相 HPLC (C4) 還元後巻き戻し |

^a 疎水性残基 Ile, Leu, Phe 及び Trp の総数

TAPS-タンパク質は必要がなければ酸性(たとえば pH5 以下)で取り扱う方がよい。

4. TAPS-sulfonate を利用した大腸菌生産組換えタンパク質の精製と巻き戻し

これまでに TAPS-sulfonate を利用して精製と巻き戻しを行った大腸菌生産組換えタンパク質を表 1 にまとめた。

ヒト Cripto-1 タンパク質 (CR-1) はインクルージョンボディからでは巻き戻らず、還元した CR-1 の精製も凝集のため失敗したが、還元後 TAPS 化を行うと可溶化でき、酸性で抽出後、カチオン交換クロマトグラフィー及び逆相クロマトグラフィーで精製できた。精製した TAPS 化 CR-1 は還元して TAPS 基を外してから酸化還元系に稀釈したところ生物活性を持つ可溶性タンパク質が得られた²⁾。

脳由来神経栄養因子 (BDNF) のインクルージョンボディを用いて、8M 尿素中で還元可溶化した溶液と、さらに TAPS 化まで行った溶液について、100K フィルターを用いて分子のサイズを比較した結果、還元 BDNF はほとんど膜を透過しなかったのに対して

TAPS-BDNF は約 50% が透過した。TAPS 化により BDNF は自己会合あるいは不純物との会合が抑えられ、巻き戻りやすくなっていることがわかる。TAPS-BDNF はカチオン交換クロマトグラフィーで部分精製後、酸化還元系に直接稀釈して巻き戻した³⁾。

ヒト RNase4 はインクルージョンボディを 8M 尿素中で還元可溶化後、直接酸化還元系に稀釈すると 1% 以下しか巻き戻らなかったため本法による精製を試みた。還元 TAPS 化後、10% 酢酸に分散させると、大量の沈殿が生じたが、TAPS-RNase4 の約 80% は上澄みに回収された (同じ操作を TAPS 化せずに行うと、還元 RNase4 はすべて沈殿した)。上澄みは濃縮後、薄い酢酸水溶液 (pH3) に対する透析で尿素を除くと、残りの不純物もほとんど沈殿した。沈殿を除いた透析内液を直接酸化還元系に稀釈すると約 50% の収率で巻き戻った⁸⁾。

ヒト好酸球塩基性タンパク質 (ECP) ではインクルージョンボディを還元 TAPS 化後、10% 酢酸による抽出と透析の段階での、TAPS-EDN の回収率の改善を検討した。すなわち発現タンパク質 100mg あたり 25 μ l のポリエチ

レンイミン (分子量 600) を添加してから抽出と透析を行ったところ、TAPS-EDN の上澄みへの回収率は約 2 倍になった (未発表)。ポリエチレンイミンはインクルージョンボディ中のアニオン性の夾雑物が沈殿するとき、TAPS-EDN がカウンターイオンとして巻き込まれるのを防ぐと考えられる。

スロンピン切断部位を持つ His タグ付きヒト好酸球由来神経毒 (His-tag-EDN) ではまず、インクルージョンボディを 6M グアニジン塩酸塩中 pH8.5 で還元 TAPS 化し、その溶液をそのまま Ni カラムにアプライしたところ、TAPS-His-tag-EDN は素通りした。しかし酢酸抽出、透析を行って沈殿を除いた上澄みを Ni カラムにアプライしたところ、TAPS-His-tag-EDN はカラムに吸着し、イミダゾールで溶出できた。得られた TAPS-His-tag-EDN は透析後、スロンピンにより His タグを除去し、さらに酸化還元系に稀釈して巻き戻した (未発表)。

ヒトベータセルリン (BTC) は分子量が小さく、インクルージョンボディになりにくかったため、最初は大腸菌を破碎後、丸ごと還元して酸化還元系に稀釈して巻き戻していた⁹⁾。この方法で

もBTCは巻き戻るが、大腸菌由来の可溶性タンパク質が大量に共存するため、巻き戻ったBTCを強引に精製すると、HPLC用のカラムが何本もだめになった。そこでTAPS-sulfonateを用いる精製法を検討した。まず菌を破碎後、丸ごと還元TAPS化し、ポリエチレンイミンを加えた後、10%酢酸に分散させ、生じた大量の沈殿を除去した。TAPS-BTCは上澄みに回収されたので、上澄みを凍結乾燥により濃縮後、純水に対して透析したところ、混入プロテアーゼによりTAPS-BTCは完全に消化されてしまった。TAPS-BTCが変性状態で水に溶けるのでプロテアーゼのよい基質になったものと考えられる。しかしpH3(希酢酸)で透析すると、プロテアーゼ消化は起きなかった。生じた大量の沈殿を除いた後、透析内液を酸化還元系に希釈して巻き戻し、カチオン交換クロマトグラフィー(オープンカラム、pH5)を行うと、1回のクロマトグラフィーだけでBTCが精製できた(未発表)。

5. おわりに

TAPS-sulfonateを利用すれば大腸菌に変性状態で生産させたいくつかのCys含有タンパク質を沈殿を除くという簡単な操作だけで十分精製できることが明らかになった。より厳密な精製が必要なら、種々のクロマトグラフィーを利用すればよい。また変性状態のままN末端を酵素的にプロセスできることもわかった。まだ適用例は少ないが、この方法が多くのタンパク質の研究の一助となることを期待したい。

なおここに記載した内容は主に岡山大学工学部生物機能工学科蛋白質機能工学研究室での研究成果であり、共同研究者である研究室のスタッフ(妹尾昌治助教授、多田宏子助手、小坂恵助手)及び学生に感謝する。

〔参考文献〕

1) J. Maachupalli-Reddy, B.D. Kelley, & E. De Bernardez-Clark, *Biotechnol. Prog.*, 13, 144-150 (1997)

2) M. Seno, M. Desantis, S. Kannan, C. Bianco, H. Tada, N. Kim, M. Kosaka, W.J. Gullick, H. Yamada, & D.S. Salomon, *Growth Factors*, 15, 215-229 (1998)

3) M. Inoue, J. Akimaru, T. Nishikawa, N. Seiki, & H. Yamada, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 28, 207-213 (1998)

4) K. Okazaki, T. Imoto, & H. Yamada, *Anal. Biochem.*, 145, 87-90 (1985)

5) H. Koga, N. Mori, H. Yamada, Y. Nishimura, K. Tokuda, K. Kato, & T. Imoto, *Chem. Pharm. Bull.*, 40, 965-970 (1992)

6) H. Yamada, M. Seno, A. Kobayashi, T. Moriyama, M. Kosaka, Y. Ito, & T. Imoto, *J. Biochem.*, 116, 852-857 (1994)

7) H. Tomizawa, H. Yamada, K. Tanigawa & T. Imoto, *J. Biochem.*, 117, 369-373 (1995)

8) S.S. Terzyan, R. Peracaula, R. de Llorens, Y. Tsushima, H. Yamada, M. Seno, F.X. Gomis-Rüth, & M. Coll, *J. Mol. Biol.*, 285, 205-214 (1999)

9) M. Seno, H. Tada, M. Kosaka, R. Sasada, K. Igarashi, Y. Shing, J. Folkman, M. Ueda, & H. Yamada, *Growth Factors*, 13, 181-191 (1996)

新規カチオン性SH保護試薬

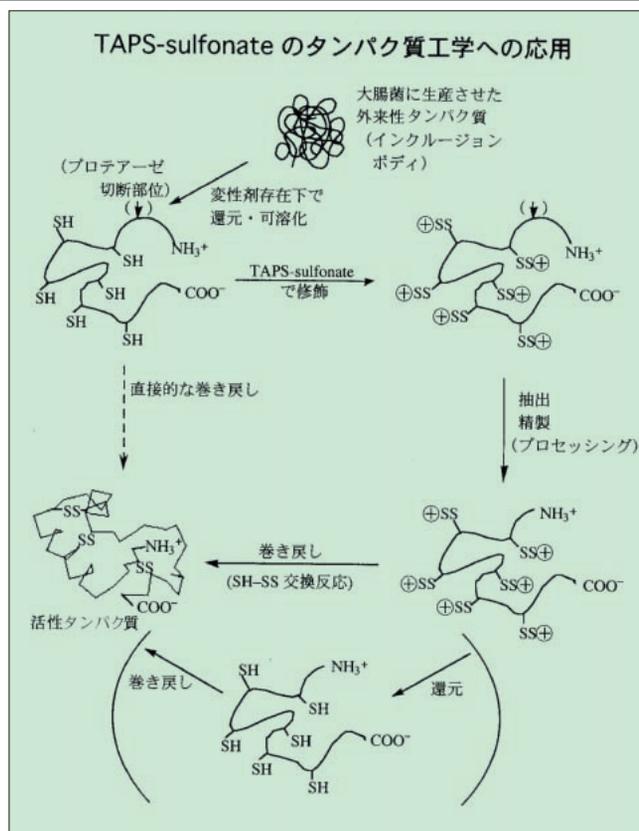
TAPS-スルホナート

本試薬は4級アミンを分子内に有するチオスルホナート化合物であり、還元剤、変性剤を含む溶液に溶かした不溶性画分中に本試薬を添加すると遊離SH基に強い正電荷を付加します。TAPS化タンパク質はpH3以下の溶媒に希釈する事により再び不溶化する不純物を除いたり、またクロマトグラフィーなどを用いて精製する事ができるなどの特長があります。

〔特長〕

- ① TAPS誘導化により変性剤を使わなくても、酸性から中性の緩衝液に溶かす事ができます。
- ② 大腸菌による組換えタンパク質の効率良い再生及び精製法(陽イオン交換樹脂など)を提供します。
- ③ 有用な医薬品となりうる組換えタンパク質の生産に要するコストを低くおさえる事ができます。

〔次頁へ続く〕



| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|----------------|------|----|-----------|
| 203-14521 | TAPS-sulfonate | 生化学用 | 1g | 6,500 |
| 209-14523 | | | 5g | 23,000 |

〔関連商品〕

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---------------------------------|------|------|-----------|
| 203-13041 | Thioredoxin, recombinant | 生化学用 | 5mg | 23,000 |
| 187-00941 | Reduced Lysozyme, Water Soluble | 生化学用 | 10mg | 14,000 |



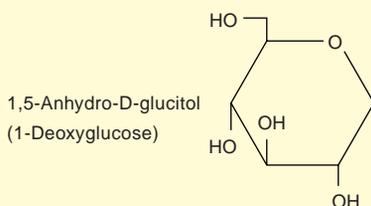
実験動物用 1,5AG 測定試薬

動物用 1,5AG キット

〔特長〕

本キットは、実験動物用に開発された血中 1,5AG 測定キットです。特別の測定機器を必要とせず、前処理カラムを用いた酵素比色法により、少量検体でも高感度に測定できます。また、血清、血漿はもとより全血でも測定できます。

〔1,5AG の構造〕



〔キット構成〕

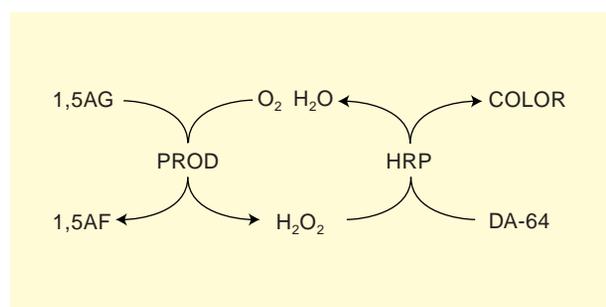
| | |
|----------------------|-------------|
| 前処理カラム | 48 本 |
| 発色試薬(凍結乾燥品) | 2.6ml × 2 本 |
| 酵素試薬(凍結乾燥品) | 2.6ml × 2 本 |
| 試薬溶解液 | 11ml × 1 本 |
| 発色反応停止液 | 5.5ml × 1 本 |
| 1,5AG 標準液(25μg/ml 用) | 2ml × 1 本 |

〔測定操作法〕

- ① 洗浄済みの前処理カラムを試験管にセットします。
- ② 標準液及び 5 倍希釈検体液 100μl をカラムのフィルター面に滴下します。
- ③ 精製水 300μl × 3 回でカラム中の 1,5AG を溶出します。
- ④ カラム溶出液に発色試薬 100μl、続いて酵素試薬 100μl を添加します。
- ⑤ 試験管ミキサーで攪拌し、20℃ で 30 分放置します。
- ⑥ 反応液に発色反応停止液 100μl を添加し、攪拌します。
- ⑦ 各反応液について精製水を対照に波長 272nm で吸光度を測定します。

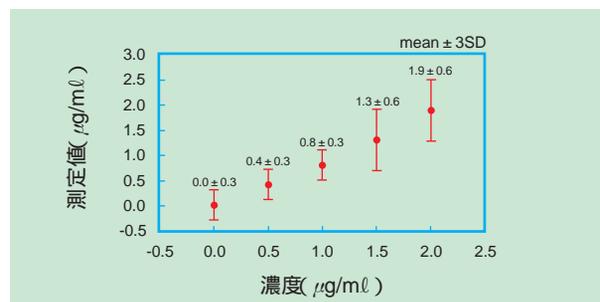
〔測定原理〕

本キットは、前処理カラムにてグルコースなどの干渉物質を除去した後、酸化酵素ピラノースオキシダーゼ (PROD) を用いる酵素比色法により測定します。



〔キットの性能〕

最低検出感度



| コード No. | メーカーコード | 品名 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---------|---------------|-------|-----------|
| 630-02061 | 775050 | 動物用 1,5AG Kit | 48 回用 | 45,000 |

DNA オリゴマーセットに新しく 10mer セットを追加 同じ Tm 値で 12 本セット

DNA オリゴマー (10) セット

遺伝子研究用

本品は、長さ10merのオリゴヌクレオチドを、同じTm値で12本セットにした商品です。10merの配列は、無作為に選択し、同一配列が無いように管理しております。

内容量(各オリゴマー量):0.50D

保存条件:2 ~ 10 (但し、溶解後は - 20)

12mer セットも取揃えておりますので、資料をご請求下さい。

DNA オリゴマー (10) セット I (Tm30-C)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| AT 61 | CCCTGGTAAA |
| AT 62 | CATCTTGGCA |
| AT 63 | CGGCAGTATA |
| AT 64 | CGAGAATACG |
| AT 65 | GGAGAATCGT |
| AT 66 | GCTCTTGCTA |
| AT 67 | GATCCTCTTC |
| AT 68 | CGAGACTTTG |
| AT 69 | TTTCCCGCAA |
| AT 70 | CATCAAGTTCG |
| AT 71 | GGGCATAAAG |
| AT 72 | GTGCGTACTA |

043-27231 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット I (Tm30-D)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| AT 81 | GTACGCAAGT |
| AT 82 | TGACGGTGAT |
| AT 83 | GACCGAAAAG |
| AT 84 | GTACAAAAGCG |
| AT 85 | GAGCGATCAT |
| AT 86 | CATCTACCTC |
| AT 87 | GGGAACGTTA |
| AT 88 | GAAGCCGAAT |
| AT 89 | CCAGAAGTTC |
| AT 90 | CCACGAAGAA |
| AT 91 | CTTCTTGTCG |
| AT 92 | AGGACAATCG |

040-27241 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット I (Tm30-A)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| AT 21 | GTTCTTAGCG |
| AT 22 | AGGCAGGAAA |
| AT 23 | CGGC GTTTTT |
| AT 24 | CACCTGGAAT |
| AT 25 | CTTCGTAAGG |
| AT 26 | CGAGGTAAGT |
| AT 27 | GGGACATGAA |
| AT 28 | GGAGTCAGAA |
| AT 29 | GCCTCTAGAT |
| AT 30 | CTACGCGAAA |
| AT 31 | CATGAAACCG |
| AT 32 | GGTCTATACG |

049-27211 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット I (Tm30-B)

| No. | シーケンス |
|-------|------------|
| AT 41 | CGGATGTTGT |
| AT 42 | GGCTGGTATA |
| AT 43 | CGTGTATTGG |
| AT 44 | CAACCAACGT |
| AT 45 | CAAGACGCAA |
| AT 46 | GGTCTTATAC |
| AT 47 | CGACTCAATG |
| AT 48 | GGTGATCAAC |
| AT 49 | GTGGATGCAT |
| AT 50 | CGGCTTTATC |
| AT 51 | CCCTGAACAA |
| AT 52 | CCGCATTGTA |

046-27221 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-A)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| BT 41 | GAGCTGGTTC |
| BT 42 | CAGAGTTGCG |
| BT 43 | CGCCGCATTA |
| BT 44 | CGGCATGTTT |
| BT 45 | GGTGGATCGT |
| BT 46 | GTCCGCATCA |
| BT 47 | CAAGGCGAGT |
| BT 48 | CGACGGTCAT |
| BT 49 | GTCCGCAGAA |
| BT 50 | CGTGGAAACCA |
| BT 51 | TCCCCCAGTT |
| BT 52 | CTCCAATGGG |

041-27271 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-B)

| No. | シーケンス |
|-------|------------|
| BT 61 | GAGACGACCA |
| BT 62 | ACCCGGTCAT |
| BT 63 | CGGTCGACAA |
| BT 64 | GGTCCAAGGT |
| BT 65 | CGCCGGTAAA |
| BT 66 | GGAGGACTTC |
| BT 67 | GCTGACGCAA |
| BT 68 | CGACAGGCTA |
| BT 69 | TGCGGAAGGT |
| BT 70 | GCCCTACCAA |
| BT 71 | GAAGGAGCTC |
| BT 72 | CGACATTGCG |

048-27281 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-C)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| BT 81 | GTCCATTGGG |
| BT 82 | CGCCGATGAT |
| BT 83 | CGTGAATCCG |
| BT 84 | CCAGAAAAGCG |
| BT 85 | GGACAAAAGGG |
| BT 86 | CGTGCCACTA |
| BT 87 | CGAGACGACT |
| BT 88 | CCAGGGTTTT |
| BT 89 | CGGATTGTTCG |
| BT 90 | CGGAGCTGAT |
| BT 91 | CGCCAAAATGG |
| BT 92 | GATCGGCGCAA |

045-27291 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-D)

| No. | シーケンス |
|-------|------------|
| CT 01 | CACCCATCA |
| CT 02 | CCTCGCGATT |
| CT 03 | GGAGAATGCG |
| CT 04 | CGTGTGGCA |
| CT 05 | CTGCCAGCAA |
| CT 06 | CGGCATAGTC |
| CT 07 | CGACCTCAAG |
| CT 08 | CCACGCATGT |
| CT 09 | CACCGGTATC |
| CT 10 | CGCCATCAAC |
| CT 11 | GAAGCATAGG |
| CT 12 | TTGGGGTGGT |

048-27301 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-E)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| CT 21 | GGCCAATTCG |
| CT 22 | CTCCGGTCAA |
| CT 23 | CGTGCTATGG |
| CT 24 | GGCCCATGAA |
| CT 25 | GCGGATCAAG |
| CT 26 | CCTGGGTTCAT |
| CT 27 | CGTGGAAATCG |
| CT 28 | CGCTATCCCA |
| CT 29 | GTGCGGTAAG |
| CT 30 | GAACCCGGA |
| CT 31 | CAGCAACCCA |
| CT 32 | GGACGGAACCT |

045-27311 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット II (Tm32-F)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| CT 41 | CCGGTTCACT |
| CT 42 | CCTGGGTATC |
| CT 43 | CACCTTCTCG |
| CT 44 | GGACGAGAAC |
| CT 45 | CGTCGCAAAG |
| CT 46 | CCCTTTGGAG |
| CT 47 | GGTCTGCCAT |
| CT 48 | AAGCACGCAC |
| CT 49 | ACTGTCCGCA |
| CT 50 | CGCTAGGATC |
| CT 51 | GTTCCGCGAAG |
| CT 52 | CGCCACTGAA |

042-27321 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm32-G)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| CT 61 | CATCAACCCG |
| CT 62 | GATGACGGAC |
| CT 63 | AGGC GTTGAC |
| CT 64 | CAGCTTCGAG |
| CT 65 | GGACACGATG |
| CT 66 | CTGCTGTAC |
| CT 67 | CCTGTCCATG |
| CT 68 | CCTCACTGGT |
| CT 69 | CAAGGAGTGC |
| CT 70 | CCCGAAAATG |
| CT 71 | CGCTGACTTC |
| CT 72 | GGCCAAAGAA |

049-27331 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm34-A)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| CT 81 | CTGCCGTCGA |
| CT 82 | CGCCGTACGT |
| CT 83 | GTGCCGAGCA |
| CT 84 | CGCCACGGAA |
| CT 85 | CGAGGCATGG |
| CT 86 | CCAGCATGGG |
| CT 87 | CGGCCTACGA |
| CT 88 | CCGCGATACG |
| CT 89 | CGCCCTCGAA |
| CT 90 | CCCCGGTCACT |
| CT 91 | CCCTGCGCTA |
| CT 92 | CATCGGTGGG |

043-27351 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm34-B)

| No. | シーケンス |
|-------|------------|
| DT 01 | CGACGGTAGG |
| DT 02 | GGGCGGTGTA |
| DT 03 | GCGCTGTGCA |
| DT 04 | CCTCGCAGCA |
| DT 05 | GGTGACGCGA |
| DT 06 | CGCCATGGCA |
| DT 07 | CGTCACTGCG |
| DT 08 | CCGGCGAACT |
| DT 09 | GGAGGAAGCG |
| DT 10 | GTGCCCGCTA |
| DT 11 | CTACGGGCGT |
| DT 12 | GAAGGCGGCA |

040-27361 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm34-C)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| DT 21 | CAAGCGAGCG |
| DT 22 | CGCCTGTTGG |
| DT 23 | CGGAGCAGCA |
| DT 24 | CCACGCGTAC |
| DT 25 | GTCCACGGCA |
| DT 26 | GTGCAAAGGCG |
| DT 27 | GGTCCGCGTT |
| DT 28 | CGTCTCAGGG |
| DT 29 | CCTCCCGGTT |
| DT 30 | GGGAGAAGGAT |
| DT 31 | GCCCGGTGAT |
| DT 32 | GGTGATCCCG |

047-27371 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm34-D)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| DT 41 | CCGCCGAAAAG |
| DT 42 | GAACGTCGCG |
| DT 43 | GGTGACGCGA |
| DT 44 | GGGAGGAGTC |
| DT 45 | CATGGGGTGC |
| DT 46 | CGCCGTTGAC |
| DT 47 | GCCCATCCAG |
| DT 48 | GATCGGGCGCA |
| DT 49 | GGCTTGCGGT |
| DT 50 | GGGAGTCCCA |
| DT 51 | CCCCATGCTC |
| DT 52 | CAGCCTGGAC |

044-27381 24,500 円

DNA オリゴマー (10) セット III (Tm28-A)

| No. | シーケンス |
|-------|-------------|
| AT 01 | GTTCAAAGAA |
| AT 02 | CGACTTTGTA |
| AT 03 | TCTCAATGTC |
| AT 04 | AATCCGTCTA |
| AT 05 | CGAGATACAT |
| AT 06 | CGCTTGTAAA |
| AT 07 | CATCGAACAA |
| AT 08 | CATCAAGCAAT |
| AT 09 | ATGGAAAACG |
| AT 10 | CATGGATATC |
| AT 11 | CAACGAAGAA |
| AT 12 | CAAGCAATCA |

046-27341 24,500 円

Agarose - precast Gel

遺伝子研究用

DNA 分析用のアガロースプレキャストゲルです。サブマリン・ミュージットタイプの電気泳動装置で直ちに電気泳動が可能です。1%、3%の濃度があり、各 12 レーンです。

内容：10mM TBE Buffer
(EtBr 入り 0.1 μ g/ml)

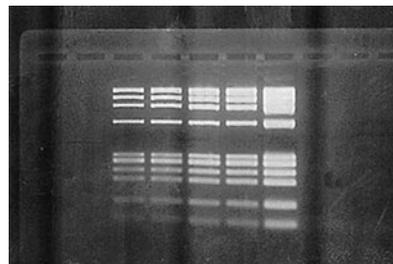
ゲルサイズ：幅 107mm × 長さ 60mm
[ミュージットサイズ]

ゲルの厚さ：4mm

ゲルホルダーサイズ：

幅 110mm × 長さ 60mm

レーン：12 レーン



3% アガロースゲル
(ϕ X174/Hae III digest)

| コード No. | 品名 | 容量 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|------------------------------------|------|------------|
| 019-18021 | 1% Agarose-precaster Gel | 12 枚 | 照会 |
| 016-18031 | 3% Agarose-precaster Gel | 12 枚 | 照会 |
| 012-18131 | 1% Agarose-precaster Gel (EtBr 添加) | 12 枚 | 照会 |
| 019-18141 | 3% Agarose-precaster Gel (EtBr 添加) | 12 枚 | 照会 |



Cap Site cDNA[®] に新シリーズが登場

Cap Site cDNA[®] dT

Cap Site cDNA[®] dT (キャップサイト cDNA dT) は、真核生物の 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ボヌクレオチドで置換した後、オリゴ dT プライマー (従来品では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 ライブラリーです。

Cap Site cDNA[®] dT を鋳型とし、rOligo 相補的配列部分に特異的なプライマー (製品に添付) と解析したい目的遺伝子に特異的なアンチセンスプライマーを用いて 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クローニングすることができます (CapSite[®] Hunting)。ゲノム解析における発現遺伝子の転写開始点のマッピングや正確なコーディング領域の決定に有効です。

この度、Human 由来 4 種、Mouse 由来 5 種、Rat 由来 2 種の計 11 種類を用意しました。

〔特長〕

- ・調製済みの cDNA ですので、面倒な mRNA の精製や酵素反応等が不要です。
- ・mRNA の 5' 末端側から広い範囲の情報に富んだ cDNA です。
- ・CapSite[®] Hunting により、発現遺伝子の転写開始点が迅速、高感度しかも正確に決定できます。
- ・あらかじめ cDNA として合成した Cap Site のライブラリーですので、複数の遺伝子が同時に解析できます。

〔内容〕

- ① Cap Site cDNA[®] dT 10 μ l
(25ng の poly(A)⁺ RNA を鋳型として調製したもの)
- ② 1RDT Primer (25 μ M) 100 μ l
(Cap Site cDNA[®] dT の rOligo 相補的配列部分に特異的なプライマー 1 (全種類共通))
- ③ 2RDT Primer (25 μ M) 100 μ l
(Cap Site cDNA[®] dT の rOligo 相補的配列部分に特異的なプライマー 2 (全種類共通))
- ④ Control Primer1 (25 μ M) 10 μ l
(コントロール遺伝子特異的プライマー 1 (各種類専用))
- ⑤ Control Primer2 (25 μ M) 10 μ l
(コントロール遺伝子特異的プライマー 2 (各種類専用))
- ⑥ 製品マニュアル Human, Mouse, Rat 用

〔参考文献〕

- 1) Maruyama, K. and Sugano, S. : *Gene*, 138, 171-174 (1994)
- 2) Yamabe, Y., Shimamoto, A., Goto, M., Yokota, J., Sugawara, M. and Furuichi, Y. : *Mol. Cell. Biol.*, 18 (11) 6191-6200 (1998)
- 3) Kuriyama, T., Fujinaga, M., Koda, T. and Nishihira, J. : *Biochem. Biophys. Acta.*, 1388, 506-512 (1998)
- 4) Murata, T. and Yamaguchi, M. : *J. Biol. Chem.*, 274 (3) 1277-1282 (1999)
- 5) Takakura, M., Kyo, S., Kanaya, T., Hirano, H., Takada, J., Yutsudo, M. and Inoue, M. : *Cancer Res.*, 59 (3) 551-557 (1999)
- 6) Ohtani, K., Suzuki, Y., Eda, S., Kawai, T., Kase, T., Yamazaki, H., Shimada, T., Keshi, H., Sakai, Y., Fukuoh, A., Sakamoto, T. and Wakamiya, N. : *J. Biol. Chem.*, 274 (19) 13681-13689 (1999)

| コード No. | 品名 | 包装 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|--|------|------------|
| 317-04041 | Cap Site cDNA [®] dT, Human Brain | 1set | 90,000 |
| 314-04051 | Cap Site cDNA [®] dT, Human Heart | 1set | 90,000 |
| 311-04061 | Cap Site cDNA [®] dT, Human Hippocampus | 1set | 90,000 |
| 318-04071 | Cap Site cDNA [®] dT, Human Liver | 1set | 90,000 |
| 315-04081 | Cap Site cDNA [®] dT, Mouse Brain | 1set | 90,000 |
| 312-04091 | Cap Site cDNA [®] dT, Mouse Heart | 1set | 90,000 |
| 315-04101 | Cap Site cDNA [®] dT, Mouse Kidney | 1set | 90,000 |
| 312-04111 | Cap Site cDNA [®] dT, Mouse Liver | 1set | 90,000 |
| 319-04121 | Cap Site cDNA [®] dT, Mouse Testis | 1set | 90,000 |
| 316-04131 | Cap Site cDNA [®] dT, Rat Brain | 1set | 90,000 |
| 313-04141 | Cap Site cDNA [®] dT, Rat Liver | 1set | 90,000 |

Rat RANTES ELISA Kit wako

RANTES 測定用

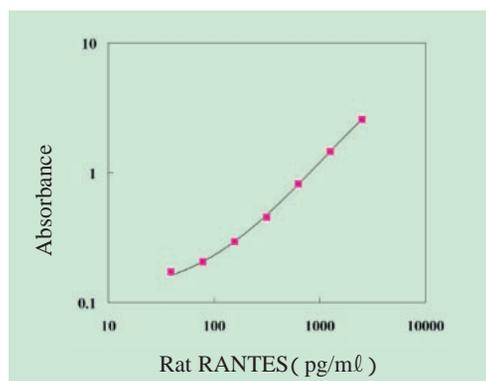
RANTES は、69 アミノ酸残基からなる分子量 7.9kDa の CC ケモカインです。好酸球に対し強い走化性を示すため、アレルギー性炎症において重要な役割を果たしているものと考えられています。

本キットは、RANTES に特異的な 2 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法に基づいており、血清、培養上清中のラット RANTES を定量することができます。

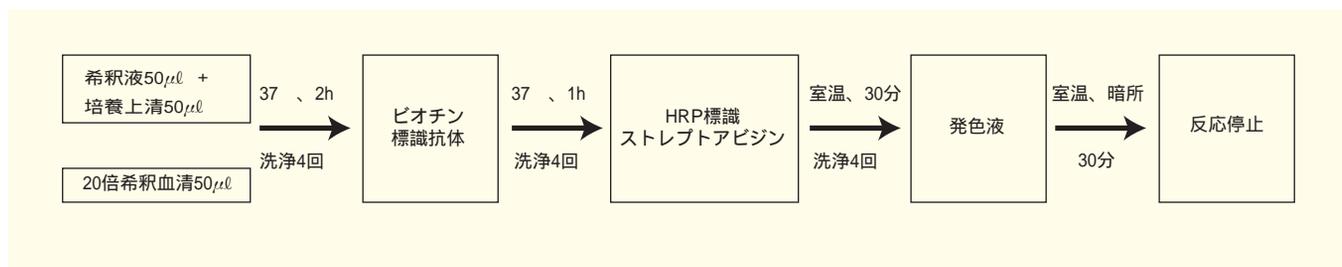
〔キット内容〕

| | |
|-----------------------------|-------|
| (1)抗体固定化マイクロプレート | 1 枚 |
| (2)ラット RANTES 標準品 | 2 本 |
| (3)標準品希釈液 | 30ml |
| (4)ビオチン標識抗体 | 12ml |
| (5)HRP 標識ストレプトアビジン(100 ×) | 0.6ml |
| (6)HRP 標識ストレプトアビジン希釈液 | 15ml |
| (7)発色液 (TMBz) | 12ml |
| (8)洗浄液 (25 ×) | 50ml |
| (9)反応停止液 | 12ml |
| (10)プレートカバー | 3 枚 |

〔標準曲線〕



〔操作法〕



〔性能〕

1) 感度

- ① 標準曲線範囲 39-2,500pg/ml
- ② 感度 20pg/ml

2) 添加回収

20 倍希釈ラット血清 80 ~ 100%

3) 特異性

ラット RANTES と反応します。ラット IL-1 β 、IL-4、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-2 とは交差反応しません。

| コード No. | 品名 | 包装 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---------------------------|-------|------------|
| 299-56201 | Rat RANTES ELISA Kit wako | 96 回用 | 75,000 |

〔関連商品〕

| コード No. | 品名 | 包装 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|-------|------------|
| 297-55401 | Rat CINC-1 (IL-8 like) ELISA Kit wako | 96 回用 | 80,000 |
| 293-55501 | Rat MIP-2 (CINC-3) ELISA Kit wako | 96 回用 | 75,000 |
| 297-53701 | Rat IL-1 β 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 |
| 299-54001 | Rat IL-10 ELISA Kit wako | 96 回用 | 70,000 |
| 293-53301 | Rat TNF- α ELISA Kit wako | 96 回用 | 70,000 |
| 295-54101 | Rat IFN- γ ELISA Kit wako | 96 回用 | 70,000 |

流動パラフィン(ミネラルオイル)

IR 用

精製度が極めて高く、無色、無臭で、無蛍光な流動パラフィンです。また、芳香族炭化水素や硫黄化合物など、紫外線を吸収する不純物がほとんど含まれていないため、Nujol 法による赤外吸収スペクトル(IR)分析の際、安心してご使用いただけます。

また、10ml × 10 本包装は点眼タイプの容器を使用しており、液漏れの心配

もなく流動パラフィンを試料に数滴滴下するのに大変適しています。

(500ml 包装は通常のガラス瓶を使用しています。)

〔規格〕

密度(20℃):0.825 ~ 0.850 g/ml

多核芳香族炭化水素:試験適合

硫酸着色物質:試験適合

赤外吸光試験:試験適合



| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|-------------------------------|------|------------|-----------|
| 129-04741 | Liquid Paraffin (Mineral oil) | IR 用 | 10 ml × 10 | 5,000 |
| 121-04745 | | | 500ml | 2,500 |

〔関連商品〕

| コード No. | 品名 | 密度(20℃)g/ml | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|-----------------|---------------|----|-------|-----------|
| 128-04375 | Liquid Paraffin | 0.86 ~ 0.89 | S | 500ml | 1,260 |
| 124-04377 | | | | 15kg | 照会 |
| 125-04765 | Liquid Paraffin | 0.825 ~ 0.850 | S | 500ml | 照会 |
| 122-04775 | Liquid Paraffin | 0.815 ~ 0.840 | S | 500ml | 照会 |
| 129-04785 | Liquid Paraffin | 0.795 ~ 0.830 | S | 500ml | 照会 |

抗菌抗かび研究用試薬

現在、生活環境の中には、抗菌や抗かびを施した製品が数多くみられ、抗菌加工品に関しては、通産省がその効果や安全性について一定の枠を設けました。また、抗かび剤についても安全性を含めた品質表示が議論されています。本品は、一般に使用されている代表的な抗菌抗かび剤です。

〔特長〕

30% アルキルジアミノエチルグリシンナトリウム溶液

一般に工業用抗菌剤として使用されます。広範囲の細菌に対し抗菌作用があり、カチオン系抗菌剤と比べ低毒性、低刺激性です。

40% 塩酸アルキルジアミノエチルグリシン溶液

一般に工業用抗菌剤として使用されます。広範囲の細菌に対し抗菌作用があり、アルカリ性で優れた抗菌効力を発揮します。

50% 塩酸アルキルポリアミノエチルグリシン溶液

一般に工業用抗菌剤として使用されます。広範囲の細菌に対し抗菌作用があり、中性から弱酸性で優れた抗菌効力を発揮します。

シクロヘキシルアミン炭酸塩

一般に鉄鋼用気化性防錆剤として使用されます。蒸気圧が高く初期防錆効果に優れています。

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|----------|-------|-----------|
| 018-17991 | 30%Alkyldiaminoethylglycine Sodium Solution | 抗菌抗かび研究用 | 250ml | 照会 |
| 012-18011 | 40%Alkyldiaminoethylglycine Hydrochloride Solution | 抗菌抗かび研究用 | 250ml | 4,000 |
| 015-18001 | 50%Alkylpolyaminoethylglycine Hydrochloride Solution | 抗菌抗かび研究用 | 250ml | 3,800 |
| 033-17661 | Cyclohexylamine Carbonate | 抗菌抗かび研究用 | 100g | 5,000 |

〔関連商品〕

| コード No. | 品名 | 規格 | 一般的な用途 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|----------|---------------|-----|-----------|
| 080-07482 | N,N'-Hexamethylenebis(4-carbamoyl-1-decylpyridinium Bromide) | 抗菌抗かび研究用 | 化粧品、薬用石鹸等の抗菌剤 | 25g | 5,600 |
| 202-14432 | 4,4'-(Tetramethylenedicarbonyldiamino)bis(1-decylpyridinium Bromide) | 抗菌抗かび研究用 | 食品工業、塗料等の抗菌剤 | 25g | 5,600 |
| 209-14442 | 2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxydiphenyl Ether | 抗菌抗かび研究用 | 食品工業、塗料等の抗菌剤 | 25g | 4,500 |

グリーンケミストリー触媒

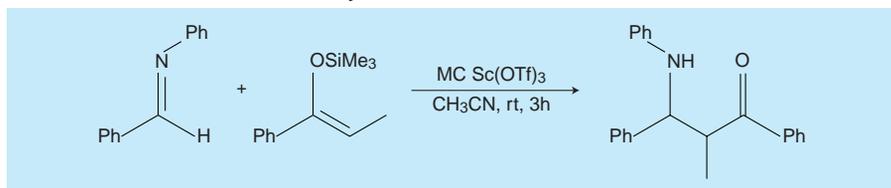
Scandium Trifluoromethanesulfonate, Microencapsulated

有機合成用

トリフルオロメタンスルホン酸スカンジウム($\text{Sc}(\text{OTf})_3$)は、水系反応で使用可能なルイス酸であり、各種反応に用いられる触媒です。この度、マイクロカプセル(MC)化技術を用いてポリスチレン樹脂に固定化しました。特長として、回収・分離が容易、再利用が可能、バッチ・フローシステムでの利用可能、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ の溶出がほとんどない等が挙げられます。環境への負担が少ないグリーンケミストリー触媒として、期待される化合物です。

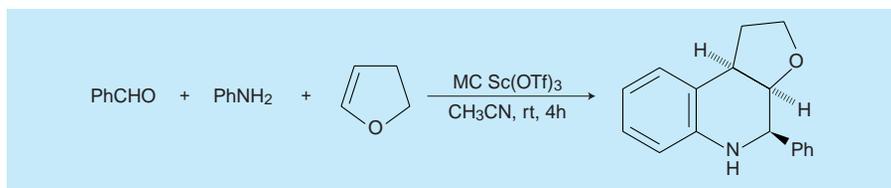
《反応例》

(1) Imino Aldol Reaction (Flow System)



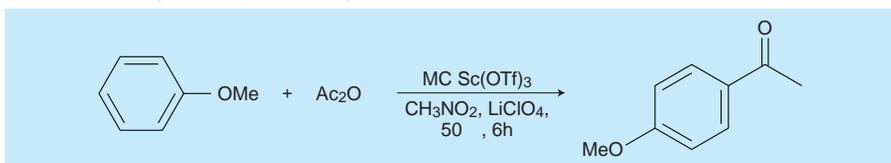
| Run | Yield (%) |
|-----|-----------|
| 1 | 90 |
| 2 | 90 |
| 3 | 88 |
| 4 | 89 |
| 5 | 89 |
| 6 | 88 |
| 7 | 90 |

(2) Quinoline Synthesis (Flow System)



| Run | Yield (%) |
|-----|-----------|
| 1 | 68 |
| 2 | 69 |
| 3 | 69 |

(3) Friedel-Crafts Acylation (Batch System)



| Run | Yield (%) |
|-----|-----------|
| 1 | 76 |
| 2 | 76 |
| 3 | 81 |

(4) その他の反応例

- イミン類を用いて アザ Diels-Alder 反応、シアノ化反応、アリル化反応
- 3成分縮合反応 Mannich 型反応、Strecker 反応
- カルボニル化合物を用いて アルドール反応、Michael 反応、シアノ化反応、Diels-Alder 反応

〔参考文献〕

- 1) 小林 修 : 和光純薬時報, 67, 6-9 (1999)
- 2) Kobayashi, S. et al. : J. Am. Chem. Soc., 120, 2985-2986 (1998)

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---|-------|----|-----------|
| 196-12041 | Scandium Trifluoromethanesulfonate, Microencapsulated | 有機合成用 | 1g | 18,000 |

〔関連商品〕

揮発性を抑えたリサイクル触媒 酸化オスミウム() マイクロカプセル化

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|-----------------------------------|-------|----|-----------|
| 153-02081 | Osmium()Oxide, Microencapsulated | 有機合成用 | 1g | 15,000 |

オスミウム酸の再酸化剤

| コード No. | 品名 | 規格 | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|----|------|-----------|
| 139-13392 | 4-Methylmorpholine 4-Oxide Monohydrate (NMO) | | 25g | 8,000 |
| 131-13391 | | | 100g | 28,000 |

掲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 | 2000年1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) |