



マイクロプレートに固相化したヒト型エストロゲンレセプター と、
蛍光標識エストロゲン試薬の競合法により内分泌
攪乱物質を測定するためのキット

Estrogen-R(α) Competitor Screening Kit

環境分析用

- 特長**
- (1) 蛍光リガンドを用いた競合分析法。ER α コートプレートで検体とER α の相互作用を直接測定。
 - (2) 96穴プレートを用いて多検体同時測定が可能。
 - (3) 抗原・抗体反応を使用しない簡単な方法で、操作時間は2.5～3時間。
 - (4) 測定に必要な全ての試薬が揃っている。

- キット内容**
- (1) ER α 固相化ドライマイクロプレート 96well × 2枚
 - (2) 反応溶液 11ml × 2本
 - (3) 10 × 洗浄液 20ml × 1本
 - (4) 測定液 20ml × 1本

295-56301 96回用×2 60,000円

キットの性能につきましては、P.22 をご参照下さい。

目次

化学大家	
「ラヴォワジエ」	島尾 永康2
総説	
「両親媒性固相担持パラジウム錯体触媒」	魚住 泰広6
「強力な酸化反応系：ルテニウムポルフィリン-複素環N-オキシド」	樋口 恒彦9
シリーズ	
< Talking of LAL >	
「第39話 非特異反応の観察方法」	土谷 正和21
< How to アボトーシス >	
「第10話 アボトーシスと疾患-AIDS-」	村田 興、黒川 健児、小林 信之 ...16
< 脳科学一口メモ >	
「プロスタノイドの中樞神経系での作用(1)」	牛首 文隆24
テクニカルレポート	
「汎用型 HPLC 装置を使用した場合のカラムサイズとカラム性能の関係」	上森 仁志14
新製品フラッシュ	
エストロゲン-R(α)コンペチタースクリーニングキット1,22
CIL社ダイオキシン・PCB類分析用標準溶液他、ドクター液5
パラジウム錯体固定化触媒8
Ru-ポルフィリン、N-オキシド、ケトコナゾール12
抗CYP,モノクローナル抗体13
ワコーパック®ワコーシル-5CN、ワコーパック®ワコーシル-C18カラム内径3mmφシリーズ15
アプロチニン溶液17
BioChain社ヒト組織由来製品18
EUROGENTEC社DNAアレイ20
武田薬品工業㈱生活環境カンパニー エストロゲンELISAキット、17 β -エストラジオールELISAキット23
sGC溶液、iNOS溶液25
ナイロンファイバークラムT(L-タイプ)26
モレキュラーシーブスパック、T4RNAリガーゼ、RNase27
オステオレジン™包埋キット28

ラヴォワジエ (1743.8.26 ~ 1794.5.8)

科学史家 島尾 永康

ラヴォワジエ夫妻の肖像画

ダヴィッド画の2.86 × 2.24mの大作、「ラヴォワジエ夫妻」(1788年)は、生身の本人たちから描いた唯一の肖像画である(図1)。後に「ナポレオンの戴冠式」の超大作で有名になる新古典主義のこの巨匠は、大富豪の肖像画しか描かなかった。アントワーヌ・ロラン・ラヴォワジエはこの肖像画に7000リーヴル、現在の邦貨に換算して約2900万円という高額の報酬を払った。ラヴォワジエは羽振りのよい金融ブルジョワだったのである。夫妻とも豪華な衣装をまとい、ラヴォワジエは著書、おそらく『化学原論』の校正をしているらしい。高価な実験器具が装飾として描かれている。

机上には水銀酸化物から酸素を遊離したり、空気の組成の決定に使った水銀入りのガス測定器がある。床の上には、水の合成に用いた大きなガラス球と、鉍水の密度測定に使った銅製の液体比重計がある。左手後方に見える大型の折り鞆には、『化学原論』に入れるためにラヴォワジエ夫人が描いた13枚の銅板画が入っている。

ラヴォワジエは45歳、科学アカデミーでは代表者の地位にあり、この年、フランス銀行の前身である手形割引銀行の総裁に就任して、フランス王国の財政を預かる重責を担っている。富と権力を持ち、すでに貴族の身分も取得していた。科学界、貴族社会、政財界、官界のすべてに顔が利いた。夫人マリー・アンヌ・ピエレット・ポールズは30歳、ラヴォワジエの秘書、実験助手、研究の協力者であるのみならず、ラヴォワジエ邸のサロンに集まる内外の知識人や政財界人をもてなす華やかな女主人でもあった。



図1. ラヴォワジエ夫妻の肖像(ダヴィッド画、1788年)

財政家・行政家

ラヴォワジエは厳密な日課をこなした。5時に起床し、6時から9時まで科学研究をし、午前は徴税請負事務局、午後は火薬管理局と科学アカデミーで過ごし、夕食後、7時から10時まで再び実験室で研究した。したがって毎日6時間を科学研究に当てた。土曜日は若い人たちが集まって来て一日中、一緒に実験をし、討論をおこなう日であった。これがパスチューの近くの造兵廠に住居を持っていた時期(1776~92年)の生活である。化学革命はこのようなして生まれた。

ラヴォワジエは財政家である。正確な会計報告書を作る有能な会計士であるのみならず、優れた文章家でもあったので、徴税請負組合でも科学アカデミーでも、どの委員会に属してもいつも会計と文書作成を担当した。25歳のとき、総括徴税請負人になった。これは60人の株主からなる私立の組合で、国王のために間接税(塩、タバ

コ、アルコール飲料、トランプ・カード、油、石鹼などの税、パリ入市物品税および関税)を徴収する役割を果たした。ラヴォワジエはまずある総括徴税請負人の持ち株の1/3を52万リーヴル(約21億6300万円)で購入し、4年後、78万リーヴルを投資して1/2株主となり、さらに7年後、全額の株主となった。徴税請負組合が国王に納めた金額は国王の財政の40~50%であった上、常に赤字だった国王は徴税請負組合から借金もしていたから、徴税請負への投資は王政の続く限り、リスクのない高利益を保障した。

ラヴォワジエは徴税請負に対して単なる投資でなく、積極的に徴税活動とその政策に参加した。最初はタバコ税委員会

に属して地方巡察官となったが、各地の人口、産業、手職、通信、労働力、賃金に精通するようになった。かれの目立った業績は、かれの計算では、パリに必要な商品の4/5しか正式に入市していない。したがって1/5は密輸であるとみて、入市物品税を厳重に徴収するため、パリを囲む城壁を作らせたことである(1779年)。このため名指しで市民からさんざんな悪評を蒙った。しかしかれは徴税の職務を通じて次第に国家の経済活動に対して専門的な見方を身につけていった。

旧制度の末期、ルイ十六世の治下(1774~93年)では、フランスの財政は破綻状態にあった。主な原因はアメリカの独立戦争に関わって、20億リーヴルの支援をおこなったことである。加えて王家の浪費がある。しかし最大の問題は僧侶と貴族は特権階級として租税を免除され、負担が第三身分(ブルジョワジーと農民)だけにかかっていた不合理さにあった。ラヴォワジエが、国王に最大の融資をおこなう銀

行で、通貨発行のための金と銀を造幣局に与える権限を持っていた唯一の銀行でもある、手形割引銀行の総裁になったのは、フランス財政の破綻寸前の革命前夜であった。革命期には国民議会の財政顧問にもなり、1791年、フランスの財政状態について長文の報告書を発表した（『ラヴォワジエ著作集』、第6巻）。国民金庫（元、王室金庫）の専門委員にもなった。

ラヴォワジエが徴税ととくに関係のない火薬と硝石の問題に首を突っ込んだのは、硝石業者による硝石とその副産物である塩の密売の摘発からである。テュルゴが財政総監になったとき、ラヴォワジエは進言して火薬・硝石請負制を廃止させた。徴税請負制と同じく火薬と硝石も少数の財政家が請け負って、利益を独占しており、その生産量は国家の必要量の半分にも及ばなかった。火薬製造でフランスに最も欠乏していたのは硝石であった。火薬・硝石請負人は安いインド産の硝石を用い、国内の硝石製造を育てなかった。七年戦争末期にインドとの海運が途絶えると大いに困窮した。ラヴォワジエは国営の、利益分配制の火薬・硝石管理局を設立してその理事となり、国内の硝石製造を育成した。その結果、1775年に170万ポンドだった硝石生産量は、1788年には380万ポンドとなり、価格も低下し、質も大いに改良された。もはや高い価格の硝石をオランダから買わずに済み、逆に170万ポンドをアメリカに輸出できた。「北アメリカが独立を勝ち取ったのは、われわれが火薬を供給したからだ」とラヴォワジエは誇らしげに語っている（『ラヴォワジエ著作集』、第5巻）。

フランス王国の国土の富の統計的研究

初め重商主義の立場に立っていたラヴォワジエは、デュポン・ド・ヌメールとケネーの影響で次第に、土地と富を課税の基礎とみなす重農主義に傾いていった。地主として自ら農業実験をおこなうにいたって、農業こそ国家

の富の唯一の源泉であると確信するようになった。革命が始まると間接税を徴収する徴税請負制は廃止され、国民議会の税務委員会は土地と建造物に基づく直接税に切り替えようとした。しかし国家の総収入を正確に知っている者はいなかった。土地台帳もなく、国家の富をどう査定するかも分からなかった。そこで財政に精通し、経済研究でも知られるラヴォワジエに、新しい税制への基礎作りを依頼した。ラヴォワジエは十数年来の人口統計学的な研究にもとづいて、「フランス王国の国土の富」（1791年）と題する報告書を議会に提出し（『ラヴォワジエ著作集』、第6巻）国家の富の査定の仕方を提示した。これはフランスの農業資源についての統計的研究であり、経済学、国家統計学、国家会計学の歴史から見て、画期的な独創性と重要さがあると、今日高く評価されている。

ラヴォワジエは科学研究で用いたのと同じ量的アプローチを、社会的、経済的問題に適用して、国家総収入は農民の実収入の総和に等しいという定義から出発し、年間国民総生産は年間国民総消費から決定できるとした。一国の総消費は平均的な個人消費に人口数をかけたものに等しいとし、フランスの人口を2500万、成人男子の年間消費を250リーヴルと見積もった。結局、フランス全国からの全財産税を2.1億リーヴルと算定したが、その3倍ほどの税収を期待していた税務委員会はこの数値に失望し、ラヴォワジエの計算を認めようとしなかった。しかしこのわずか48頁の冊子は、その経済的、統計的データのゆえに大いに注目された。ラヴォワジエは一国の経済の統計的記述の重要性、したがって統計局を設置すべきことを提起したのである。

かれのおこなったすべては、貸借対照表の方法だった。質量保存の法則により化学反応の生成物と反応物は等重量でなければならない。火薬産業での硝石の精製、農業実験での種子、肥料、土地、労働の価格と、農産物の価格との貸借、税の徴収と国王に納める

収益、手形割引銀行の発行紙幣に対する準備金の割合、国土の富の評価、これらすべてについて科学者らしくまた会計士らしく、事実と量を厳密に把握していた。

政治活動

1787年、ラヴォワジエは地主だった地方のオルレアン州議会の議員に選出された。父の死とともに貴族の肩書きを継承していたが、ここでは第三身分の議員として出た。公益と農業部会を担当し、老人問題、貧者の雇用、課税の平等性への税制改革の提案など、生涯で最も盛んな政治活動をした。三部会ではブロワの貴族の補欠議員にとどまった。「1789年クラブ」という短命に終わった穏健な団体に属して、フランスに立憲君主制が実現されるのを期待した。同年、パリ・コミューンの議員にもなったが、翌年、その議会の解散とともにラヴォワジエの政治活動は終わり、それ以後は政治を避けた。火薬・硝石管理局で活躍したように、行政家としては成功したが、政治は得手ではなかった。国民議会の財政顧問として、議会に健全な財政政策を採用させることはできなかった。

ラヴォワジエ夫人の活躍

総括徴税請負人の有力者ジャック・ポールズは、13歳の娘マリー・アンヌ・ピエレットに降りかかった、50歳の、貧乏貴族との政略結婚の話から逃れるため、急ぎよ、部下の28歳の、有能で富裕なラヴォワジエを娘の結婚相手に選んだ。

マリーは夫が偉大な化学者であることを知り、化学を学んで、実験助手、記録係、秘書として夫の研究を助けた。最も重要な協力は、英語が読めなかった夫のため英語を学んで、英語の化学書を翻訳したことである。英語が世界語になっている今日から見れば、ラヴォワジエほどの人が英語が読めなかったとは信じられないが、事実である。当時有名な、アイルランドの化学

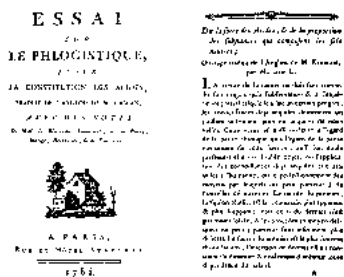


図2. ラヴォワジエ夫人が訳したカーワン著『フロギストン論』

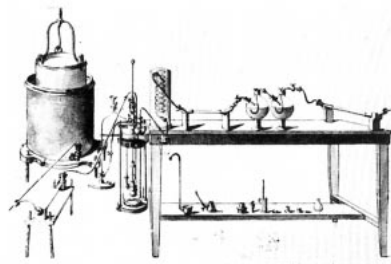


図3. ラヴォワジエ夫人が描いた『化学原論』の図XIの水彩画

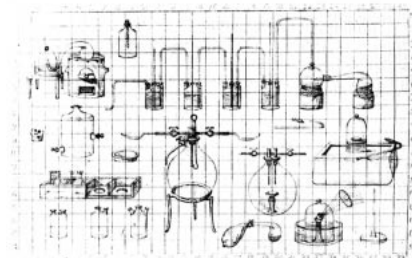


図4. ラヴォワジエ夫人が方眼紙に鉛筆で描いた『化学原論』の図IV

者カーワンの『フロギストン論』(図2)や「さまざまな酸の強さと中性塩の成分比」、その他、ブリーストリやキャヴェンディッシュを訳した。独自の訳注もつけているので、化学の理論と実際に通じていたことを示している。大画家ダヴィッドについて絵を学び、夫の実験のスケッチを描いただけでなく、主著『化学原論』のため、13枚のきわめて正確で精密な実験器具の銅板画を仕上げたことも大きい貢献である(図3、4)。ラヴォワジエはかつての総括徴税請負人として逮捕され、半年後の1794年5月8日の午前10時に革命裁判にかけられ、その日の午後6時15分に、革命広場(現、コンコルド広場)で処刑された。ラヴォワジエはその前夜まで、獄中で徴税請負の収支決算書にかかっていた。獄中で自殺をはかったともいわれ、自殺に誘った同僚をきっぱりと断ったともいわれる。獄中からの最後の手紙は、なぜか妻ではなく、いとこ宛である。「これで私はよぼよぼの老人になるまで生き永らえずにすむ。年を取らずにこのまま死ぬのは、私がこれまでに享受してきた数多くの好いことに加える今ひとつの好いことと言わねばならない」と述べている。ときに51歳であった。

ラヴォワジエの処刑後、マリーも逮捕され、65日間拘留された。土地、家屋、家具、実験器具、農地、別荘など全財産が没収された。ラヴォワジエがいかに豊富な実験器具と薬品類を持っていたかは、没収時に27594リーヴル(約1.14億円)と査定されたことから分かる。マリーは夫が獄中にいたとき、告発者・国民議会議員に会っ

て助命嘆願をしようとしたが、自尊心が強すぎてかえってかれをを怒らせてしまった。処刑後、恐怖政治が終わるとマリーは直ちに告発者弾劾の運動をおこして、逮捕させ、失脚に追い込んだ。没収された夫と自分のそれぞれの財産の返還を請求して、取り戻した。

ラヴォワジエは獄中で、それまでに発表した自己の全論文を含めた化学論文集、8巻、を計画していた。マリーは夫が処刑されたことで、新しい化学理論の提唱者という事実まで抹殺されるのを恐れて、夫の遺志を継いで、協力する者もないまま独力で『化学論文集』、2巻、を編集して1803年に出版し、キュヴィエ、ラプラス、ラグランジュ、アレキサンダー・フンボルトなど、多くの有名科学者や図書館に寄贈した。印刷もお粗末で、ミスプリントも落丁も多く、出版年さえ明記されていない、この私家版には夫の名声を埋没させまいとするマリーの強い想いがこめられていた。

アンジュール・サントノレ通り(現、ラヴォワジエ通り)の自宅では従前通りの華やかなサロンを主催したが、ラヴォワジエと親しかったにもかかわらず、その逮捕に抗議せず、権力の座にいてラヴォワジエを救いえたはずの科学者たちを激しく非難した。その客の一人であったランフォード伯と再婚したが、ラヴォワジエ・ド・ランフォード夫人の肩書きを名乗るといふ、ランフォードには堪えがたい条件をつけた。

ラヴォワジエの銅像

パリの化学会館の中庭に、高さ1



図5. ラヴォワジエの銅像(1958年、ザッキン作。1994年、パリ、化学会館に建立)

メートルの、ザッキン作のラヴォワジエの銅像がある(図5)。1994年5月8日、没後200年を記念して除幕された。かれを象徴するさまざまな実験器具によってこの大化学者を表そうとしている。天秤やガス測定器や発酵実験の装置がある。夫人が描いた人間の呼吸の酸素消費量の測定実験の銘板もあれば、ダイヤモンドの燃焼実験に用いられた大型天日取りレンズの図の巻物もある。人物だけではラヴォワジエと分からない。財政家、行政家、エコノミスト、化学者としてあれほどの業績をあげながら、ラヴォワジエの人間が見えてこない。この銅像はそれを示しているようでもある。



JIS 規格

ダイオキシン・PCB 類の分析用標準溶液

平成 11 年 10 月に JIS 規格によるダイオキシン・PCB 類の分析法と使用する標準溶液 (JIS K0311, JIS K0312) が公示されました。

CIL 社では、この度日本の JIS 規格の分析法に指定されている各種標準溶液を準備しました。下の表はその中のダイオキシン混合溶液の 1 例です。2 種類の検量線用標準溶液と排ガスまたは排水用のスパイク試験用各種溶液から構成されています。

標準溶液の希釈が不要でいつでも信頼性の高い結果が得られる、JIS 規格製品のご使用をご検討下さい。

〔成分表(ダイオキシン / フラン検量線用標準液)〕

	Concentration(ng/ml)				
	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5
2,3,7,8-TCDD	0.4	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PCDD	0.4	2	10	40	200
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1	5	25	100	500
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1	5	25	100	500
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1	5	25	100	500
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1	5	25	100	500
OCDD	2	10	50	200	1000
2,3,7,8-TCDF	0.4	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PCDF	0.4	2	10	40	200
2,3,4,7,8-PCDF	0.4	2	10	40	200
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1	5	25	100	500
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1	5	25	100	500
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1	5	25	100	500
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1	5	25	100	500
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1	5	25	100	500
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1	5	25	100	500
OCDF	2	10	50	200	1000

	Concentration(ng/ml)				
	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -OCDD	200	200	200	200	200
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -OCDF	200	200	200	200	200

容量 : STD1 ~ 5 各 0.2ml

検量線用標準液は排ガス用 (JIS K0311) と排水用 (JIS K0312) で共通です。

コード No.	メーカーコード	品 名	包 装	希望納入価格 (円)
522-48911	EDF-4961	JIS:ダイオキシン / フラン検量線用標準溶液 (n-Nonane 溶液)	5 × 0.2ml	500,000

全 28 種類について成分表のパンフレット資料を用意していますので、ご請求下さい。

[¹⁸O] 重水

[¹⁸O] 重水は、ペプチドやタンパク質構造決定をはじめ、生化学研究にも使用されております。

この度、CIL 社の高純度製品を在庫しました。

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
538-74821	OLM-240	重水 (¹⁸ O, 95 - 98%)	1g	50,000
534-74823	OLM-240		5g	195,000
532-74824	OLM-240		10g	350,000

石油製品のメルカプタン及び硫化水素の有無を判定する試薬

Doctor Solution

石油製品航空燃料油試験用

JIS K2276 石油製品- 航空燃料油試験方法に記載されているドクター試験に使用します。ドクター試験とは、航空ガソリン及び航空タービン燃料油

中のメルカプタン及び硫化水素の有無を判定する試験です。

本品は調液済みですので、手軽にお使い頂けます。

〔内 容〕

酸化鉛()を含む水酸化ナトリウム溶液

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
042-27505	Doctor Solution	石油製品航空燃料油試験用	500ml	4,000

両親媒性固相担持パラジウム錯体触媒

分子科学研究所 魚住 泰広

1. はじめに

最近私たちは両親媒性高分子ビーズ担持遷移金属-ホスフィン錯体触媒を開発してきた。本稿では特にパラジウム-ホスフィン錯体の固定化とその有機変換反応における触媒機能について紹介したい。

遷移金属触媒を利用した有機変換工程は現在の有機合成化学においてなくてはならないものと認識されている。中でもパラジウム錯体が触媒する変換工程は多くの研究報告があり応用例も枚挙に暇がない。有機変換工程であるから当然とも言えるが、それらの触媒反応はほとんど全て有機溶媒中で実施されており「水」の中での有機変換反応は未検討の部分が多い。水中での有機変換反応の挙動は従来とは大きく異なることも期待でき、新反応、新触媒の開発に関わる一つの鍵となるだろう。さらに最近の環境調和型プロセス確立を目指す社会的要請を考慮し水中での触媒機能を持つ固定化触媒の開発を開始した。

有機化合物は多かれ少なかれ「油」であり、本来「水」とは馴染まない。有

機反応の基質となる有機化合物、それと作用する触媒、この二つの「油」を水中で扱う作戦が必要である。両親媒性の高分子担体の利用が、触媒の固定化とともに水中での有機変換触媒機能発現に最適と考えた。固定化触媒の第1候補としては有機合成上の反応性が確立しているパラジウム-ホスフィン錯体触媒を標的とした。

2. 両親媒性高分子ビーズ担持パラジウム-ホスフィン錯体の合成

ペプチドなどの固相合成の発展や、さらには近年のコンビナトリアル・ケミストリーの進歩と歩を一にして官能基化された種々の高分子ビーズがポリスチレンを中心として開発されてきた。ポリスチレン・ポリエチレングリコールのグラフト共重合体ビーズ (PS-PEG resin) も既に多くの開発報告があり幾つかは市販されている。これらは有機溶媒のみならず水に対しても良好な膨潤性を示す両親媒性ポリマーであり、また固相合成用担体としての利用例から判断し通常の有機変換反応条件下では安定性が高い。そこでPS-PEG上へのトリアリールホスフィンの導入固定化を行った。固定化鍵工程には固相反応としての信頼性に富むアミド結合形成を利用する。末端に1級アミノ基を有するPS-PEG-NH₂にジフェニルホスフィノ安息香酸を縮合させ固定化ホスフィン配位子を得た。反応の終点確認はカイザー試験を利用し、また生成物の gel-phase ³¹P NMR 測定によりホスフィノ基の導入が確認できる。固定化ホスフィン1のNMRでの挙動は不均一試料であるにも関わらず鋭い吸収を示し、むしろ均一系であるPEG基を持つ類似のホ

スフィン2に近い。これは1のホスフィノ基近傍の環境が(有機溶媒中(I-C)でも水中(I-W)でも)溶液常態に比較的似ていることを示すと理解できる。この固定化ホスフィンに[PdCl(-allyl)]₂を有機溶媒中で過剰量作用させ濾過、洗浄すると容易に固定化パラジウム錯体4が調製できる。錯体形成も gel-phase ³¹P NMR 測定によりホスフィノ基の、gel-phase ¹³C NMR 測定で ³-C₃H₅基の確認がそれぞれできるとともに ICP 発光分析でも固定化錯体全体の組成を見ている。

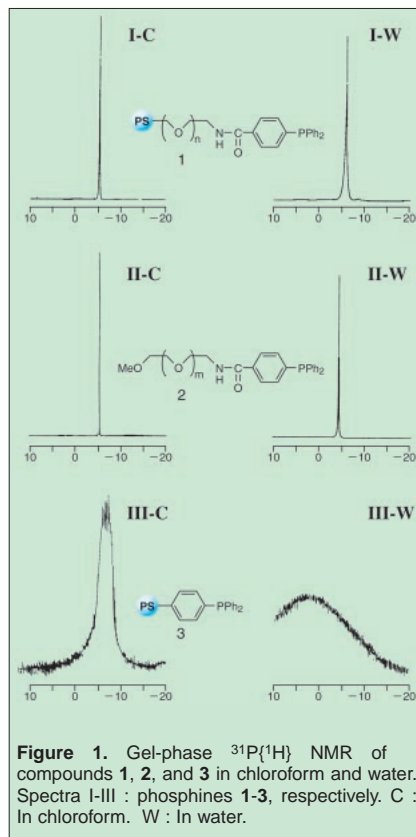
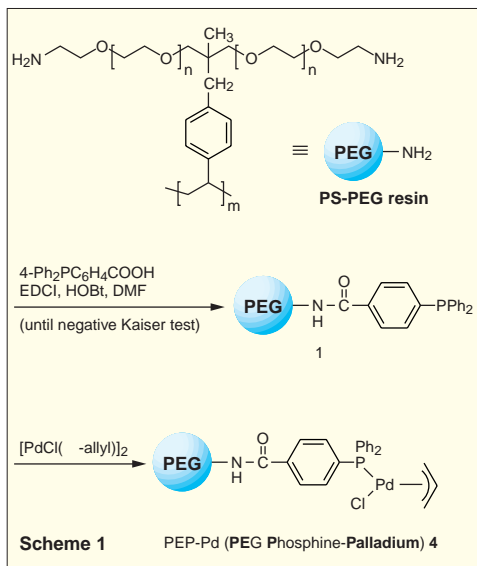


Figure 1. Gel-phase ³¹P{¹H} NMR of compounds 1, 2, and 3 in chloroform and water. Spectra I-III : phosphines 1-3, respectively. C : In chloroform. W : In water.

3. 水中でのパラジウム触媒アリル位置換反応

アリルエステル化合物は低原子価パラジウムと反応し -アリルパラジウムを与えることが知られている。同



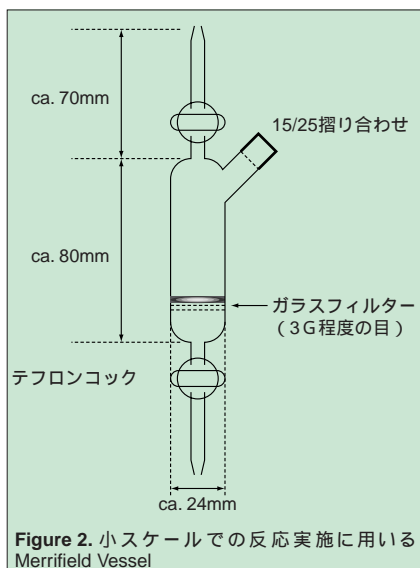


Figure 2. 小スケールでの反応実施に用いる Merrifield Vessel

中間体を鍵中間体とするアリル位求核置換反応(辻反応)はパラジウム触媒有機変換反応の中でも最も良く検討され利用されてきた反応である。前項で調製した固定化触媒が本当に水中での触媒機能を示すかどうか?この変換工程を検証例として試みた。アリルエステル、求核試薬(活性メチレン化合物など)固定化錯体触媒、炭酸カリウム水溶液を反応容器(Figure 2)に入れ、室温で振盪すると目的とするアリル位置換生成物がほぼ定量的に得られた。Scheme 2 に示した種々のアリルエステルと求核試薬のどの組み合わせでも目的反応は円滑に進行する。有機溶媒中での均一系パラジウム錯体触媒による同様の変換工程では、水素化ナトリウムや3級アミンなどの強い塩基の存在が必要であるのに対し、水中での固定化触媒反応では炭酸カ

リウム水溶液という扱いやすい穏やかな条件で充分である、完全水系メディア中での反応、固定化遷移金属触媒反応、という我々にとって未経験の2つの条件下での試みだけに、この高い反応性は我々にとって非常に勇気づけられる結果であった。有機溶媒中での一般的アリル位置換反応では炭酸カリウムはほとんど全く働かず、また水系メディア中では既存の均一系錯体触媒は不溶に近く有効でない。

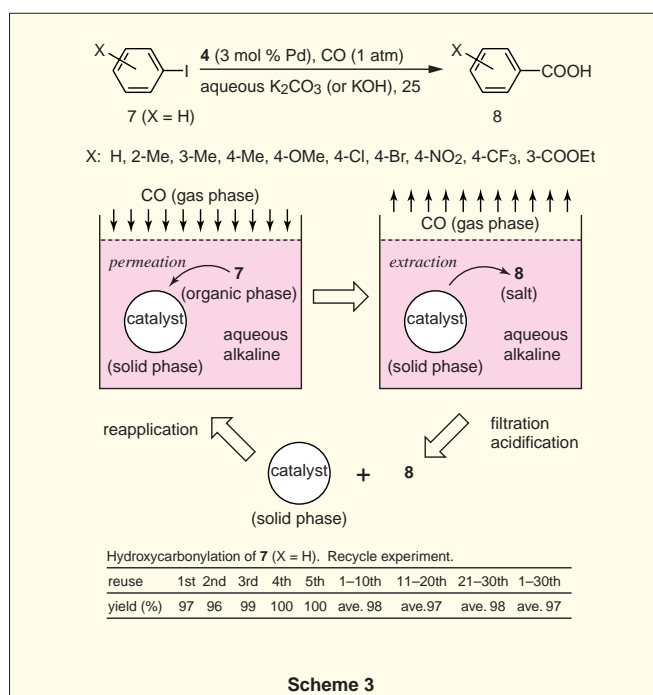
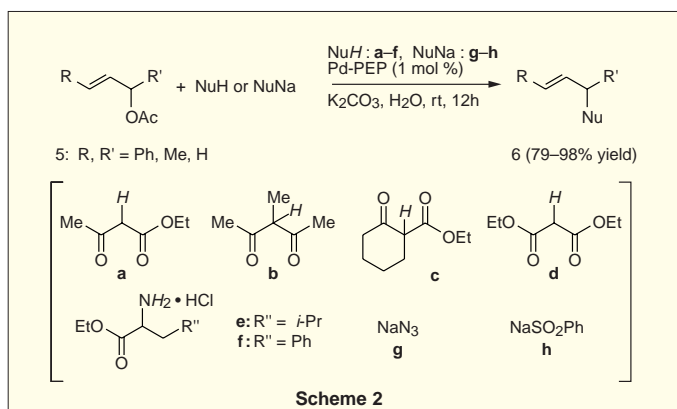
アジ化ナトリウム、スルフィン酸ナトリウム、アミノ酸塩酸塩、のような有機溶媒に溶けない試薬も同様の条件下で求核試薬として使用でき、それぞれ対応するアリル位官能基化生成物が得られることも水を使った際の利点である。

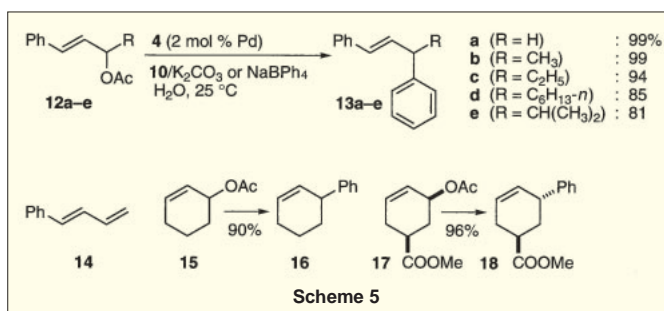
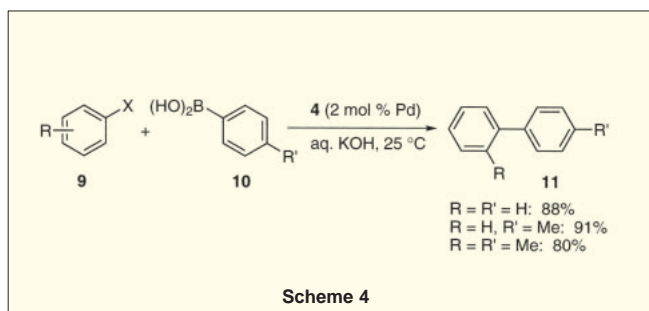
4. 芳香族ハライドのヒドロキシカルボニル化反応

芳香族ハライドに対するパラジウム触媒カルボニル化反応は安息香酸エステルやアミドの合成に威力を発揮するパラジウム触媒の代表的有機変換工程である。この反応が水中で進行するならば安息香酸そのものが得られるものと期待された。結果を図に示した。ほとんど全ての沃化アリールの変換に有効であり、さらには臭化アリールさえも室温下でカルボニル化を受け。さらにこの変換

工程で特筆すべきことは、固定化触媒の回収再利用の容易さである。回収再利用そのものは上述のアリル位置換反応でも容易に実施できたがヒドロキシカルボニル化でのリサイクル実験は比較にならないほど易しい。反応系は芳香族ハライド(有機物)、一酸化炭素(気相)、触媒(固相)から出発し、安息香酸(生成物:炭酸カリウム水溶液に易溶)を与える。反応容器を解放しC1試剤である一酸化炭素をのぞき、濾過により固定化触媒は回収される。ハライドは水に難溶であり、もし未反応のまま残存していても固相のポリスチレンマトリクスに浸潤したまま濾去される、濾液(炭酸カリウム塩基性)には生成物が溶解抽出されている。これを酸性にすれば目的物の安息香酸が、結晶性の良い場合には析出し、得られる。有機物、水溶性有機物、気体、固体の4相の分別であり、反応系次第では後処理まで含めて有機溶媒ゼロのグリーンプロセスである。触媒の回収再利用は30回連続の使用まで活性低下を示さない。31回目で低下したわけではなく、無限に続きそうなので中断しただけのことである。

また、カルボニル化とともにパラジ





ウム触媒挿入反応の大きな部分を占めるヘック反応もこの固定化錯体触媒存在下、問題なく水中で進行することを確認している。

5. 水中でのパラジウム触媒クロスカップリング(鈴木-宮浦反応)

芳香族ハライド(あるいはアルケニルハライド)とアルキル金属試薬とのパラジウム触媒クロスカップリングは、いわゆる π -アリル経由の反応、挿入型の反応、とともに有機合成的視点からは3大パラジウム触媒変換工程とすることができる。アルキル金属試薬としては、マグネシウム、亜鉛、ジルコン、スズ、などなど幅広い金属が有効である。中でもホウ酸試薬と有機ハライドの sp^2 - sp^2 間の結合形成反応は汎用性の高い優れた触媒的クロスカップリング反応である。有機ホウ酸試薬は水中でも安定であり、この反応は我々の固定化触媒の適用に好都合の反応であった。実施結果の代表例を図に示した。我々はもはや水中で触媒反応が進行するのは当然のように考えており、むしろ少々図に乗って有機溶媒中での均一触媒反応系よりも顕著に高い反応性を求め始めていた。そこで実施成功例が少ないアリルエステルに対するアリルホウ酸試薬によるパラジウム触媒アリル位アリル化を試みてみた。その結果アリルエステル 12 に対してアリルホウ酸試薬 10 は固定化触媒 4 存在下、水中、室温で反応し満足行く収率で対応するアリル位アリル化生成物を与えた。通常のパラジウム

(0) 触媒反応ではこの変換工程はより高温の反応条件を必要とする。高温条件では例えば 12b のように β 位に水素を持つ基質では π -アリルパラジウム中間体からの β 水素脱離が優先し共役ジエン化合物 14 を与えるのみであり目的反応は進行しない。すなわちこのような基質では反応性の低さを熱によって補うことができず、触媒系そのものの高活性化が必要となる。固定化錯体触媒 4 は水中での反応で有機溶媒均一系触媒よりも高い反応性を示すがゆえに可能となった変換工程とすることができる。

6. おわりに

以上最近我々が開発してきた両親媒性高分子固相担持パラジウム錯体触媒の水中での触媒機能を合成的利用の面から紹介した。水中での触媒反応実施により新しい反応性や選択性の開拓を目指しつつ開始した研究において、ようやく有機溶媒中で従来から研究されてきた基本性能の発現が確

認でき、また不均一というハンデを越えて、むしろ均一系よりも高い活性が見え始めた段階である。他の遷移金属種を利用し、この両親媒性固相利用の水中反応実施という方向性のさらなる一般性確立、そして新規反応の開拓へと少しづつではあるが進んで行きたいと考えているところである。

[参考文献]

- (1) Allylic substitution: (a) Y. Uozumi, H. Danjo, and T. Hayashi, *Tetrahedron Lett.*, 38, 3557-3560 (1997). (b) Y. Uozumi, H. Danjo, and T. Hayashi, *Tetrahedron Lett.*, 39, 8303-8306 (1998). (c) H. Danjo, D. Tanaka, T. Hayashi, Y. Uozumi, *Tetrahedron*, 55, 14341-14352 (1999).
- (2) Hydroxycarbonylation: Y. Uozumi, T. Watanabe, *J. Org. Chem.*, 64, 6921-6923 (1999).
- (3) Cross-coupling: Y. Uozumi, H. Danjo, and T. Hayashi, *J. Org. Chem.*, 64, 3384-3388 (1999).

New Products

リサイクル可能なパラジウム錯体固定化触媒

Di- μ -chlorobis[(π -allyl)palladium(II)], Supported PEG-PS Resin

有機合成用

043-27731 500mg 照会

強力な酸化反応系：ルテニウムポルフィリン — 複素環 *N*-オキシド

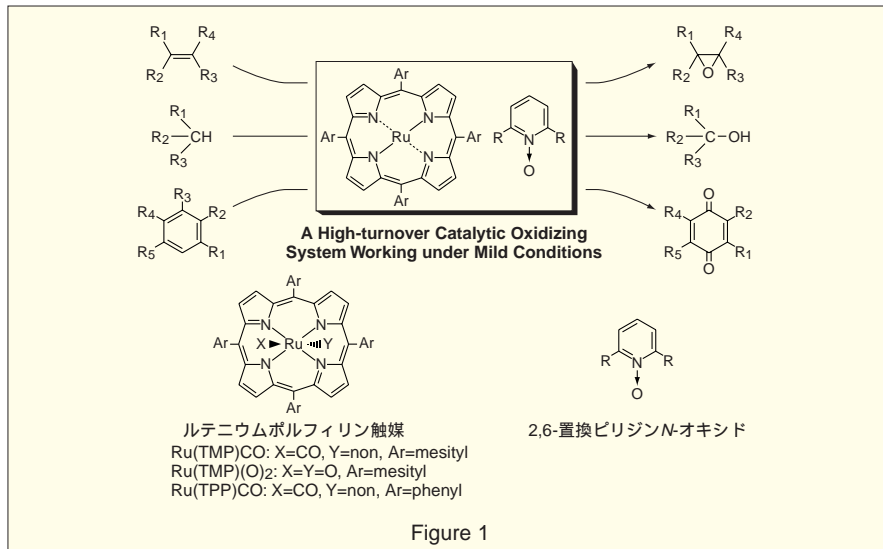
東京大学大学院 薬学系研究科 樋口 恒彦

はじめに

アルカン、芳香環など不活性な化合物の酸化は、不活性な分子への酸素官能基の一段階導入を行うものであり多くの意味で有用な化学変換と考えられる。反応性の低い炭化水素部位に一段階で水酸基などの導入を収率良く行いうることができれば、種々の生理活性物質や医薬品代謝物など有用な化合物合成への効率の良いアプローチの手段となり得る。特に代謝物は医薬開発においてその薬効や毒性を検討するために相当量必要になるが、動物から得る場合多くの煩雑な作業と時間を要することが少なくない。しかしながら不活性部位の酸化において従来の化学酸化反応系を用いた場合満足し得る収率と選択性を併せ持つ反応系は皆無に等しかった。

一方、生体中ではシトクロム P450 など不活性基質を容易に選択性高く酸化修飾する酵素が存在する。著者らはヘム酵素である P450 に発想を得、金属ポルフィリンを触媒とする反応系の開発を行った。本アプローチからの反応系開発は内外で盛んに行われていたが、アルカンなどを基質に対して高い収率で酸化を行える系はなかった¹。

著者は高い酸化活性を発現するような反応系を構築するに際し触媒設計のみならず、触媒への酸素原子移行試剤 X-O の設計が重要と考えた。すなわち、(1) X-O 自身や酸素移行後に生じる X が生成する高反応性酸化活性種と反応しにくいこと、(2) 生じる X が触媒反応を妨害しない、などの要件を満たす必要があると考えた。ここで従来触媒系の酸化剤としてほとんど省みられていなかったピリジン *N*-オキシドなど含窒素芳香族複素環 *N*-オキシド²



が条件を満足することに着目した。また以前よりルテニウムという金属の有する触媒としての高い能力にも興味を持っていた。このような着想から「ルテニウムポルフィリン - 含窒素芳香族複素環 *N*-オキシド系」の開発に至った

(Figure 1)。以下に強力な反応性と選択性を合わせ持つ本反応系が行った種々の基質酸化反応について述べる。

1. 高効率エポキシ化

Run	Olefin	Oxidant	Epoxide	Yield ^{a)}
1				99%
2				99%
3				98%
4				70%
5				97% ^{b)}
6				92% ^{b)}
7				89% (styrene), 5% (4-vinylbenzyl chloride)
8				97%

These reactions were carried out in benzene at r.t. under Ar overnight. [olefin]=170 mM; [oxidant]=180 mM; [Ru(TMP)(O)₂]=0.5-2.0 mM.
 a) Isolated yield otherwise noted. Based on olefins. b) Determined by GLC.

Ru ポルフィリンと 2,6-二置換ピリジン *N*-オキシドを組み合わせて反応を試みると、極めて効率よくエポキシ化を進行させることが明らかとなった (Table 1)。試みた他のすべての金属錯体では全く反応は進行せず本反応が Ru ポルフィリンに特異的であることがわかった。オレフィンとほぼ等量の 2,6-ジメチルピリジン *N*-オキシドを混合触媒量 (0.5 mol %) の Ru(TMP)(O)₂ を作用させることでオレフィンはすべて消費され、定量的に対

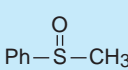
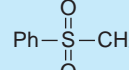
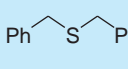
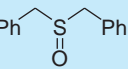
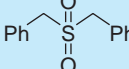

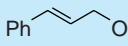
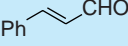
応するエポキシドおよび2,6-ジメチルピリジンが得られた。本反応系により種々のオレフィンのエポキシ化をそれぞれ収率よく行うことができた (Run 1)。

cis-オレフィンからは *cis*-エポキシドのみが選択的に得られた (Run 3)。テルペン類であるカルボンのように不飽和カルボニル構造が共存しても支障はない (Run 4)。触媒回転数は最大17,000回に達した (Run 5)。窒素オルト位に置換基を導入すると反応性を示し、特に2位6位両方に置換基のあるものが最も効率良かった。反応後生じる複素環に Ru への配位能が低いことが必要と考えられる。置換基は、メチル基よりも Cl, Br の方が収率、反応速度共に高い値を示した。これは八口ゲン置換の方がその電子吸引性のためにピリジン環の脱離基としての性質が高まったことなどによると推測される。

ピリジン以外の複素環の *N*-オキシドでも、配位性を考慮したものは、同様に良好な酸化剤として機能することも判明した (Run 6)。発ガン物質として有名な4-ニトロキノリン *N*-オキシドも良い酸素供与体となり、エポキシドと脱オキシされた4-ニトロキノリンとを共に高収率で得た。以上より本反応系は芳香族複素環 *N*-オキシド一般に応用し得る。また、脱オキシ化されて生じる複素環類も収率良く得られることから *N*-オキシドの脱オキシ化反応としても有用である⁴。

オレフィン幾何異性体に関しては *cis*-オレフィンの方が *trans* 体より反応性が高く、オレフィンの *cis*-, *trans* の混合物の反応では *cis* 体が選択的に酸化され *cis*-エポキシドを与えた (Run 7)⁵。このような選択性は合成化学的に有用な性質と思われる。またテルペン類のような酸素官能基を有するジエンでは、酸素官能基から遠い方の二重結合が選択的にエポキシ化された (Run 8)。

Table 2 Oxidation of Sulfides, Allyl alcohol and Benzylalcohol

Run	Substrate	Conditions	Product (Yields based on substrates) ^{a)}			
1	Ph-S-CH ₃	cat. = RuTMP(O) ₂ 80°, 0.5h		90%		7%
2		cat. = RuTMP(O) ₂ 80°, 2h		77%		3%
3		cat. = RuTMP(O) ₂ r.t., 12h	PhCHO	81%		
4		cat. = RuTMP(O) ₂ r.t., 12h		79%		

These reactions were carried out under Ar in benzene ([substrate]=200 mM, [catalyst]=1 mM, a) Isolated yield.

2. スルフィド、アリルアルコール、ベンジルアルコールおよびアミンの酸化

オレフィン以外では、本反応系はスルフィドやアリルアルコール、ベンジルアルコール類の酸化も行い、それぞれスルホキシド、アルデヒド体を収率よく与えた (Table 2)。⁶ スルフィドに関しては、反応速度はオレフィンの場合より遅く、これはスルフィド自身あるいは生成物が Ru ポルフィリンに配位することにより反応をある程度阻害していることによると推測された。

アミン類の酸化も進行し、*N,N*-ジメチルアニリンを基質とすると、低収率ながら *N*-メチルアニリンが得られ、P-450 と同様に *N*-脱アルキル化が進行することがわかった。

3. アルカン類の効率的酸化

本反応系は不活性なアルカン、芳香環に対してはそのままではほとんど生成物を与えなかった。しかし少量の HCl あるいは HBr の添加を行ったところ反応性が格段に高まり、室温付近でアルカン類を極めて効率良く酸化できるようになることを見出した (Table 3)^{7,8}。濃塩酸あるいは臭化水素酸数滴とモレキュラーシーブ 4A を系中に加えても同様である。アダマンタンの酸化について例にとると、基質はほとんど消費され総収率 94% で水酸化体と少量のケト体に変換された。触媒回転数は

120,000 回に達し Ru ポルフィリンが触媒として極めて効率よく機能することが示された。アルカンの酸化においては従来の Fe 及び Mn ポルフィリンと酸化剤を用いる系では自己酸化に対しかなり修飾して保護する工夫が必要であった^{1b}。一方本反応系では合成しやすいが通常酸化分解も起きやすい無置換テトラフェニルポルフィリンの Ru 錯体でも十分に機能する点も大きな特徴である。

次に、種々の構造を有するアルカン類についても酸化反応を行った (Run 1-7)。いずれの場合も収率は良好で、3級の炭素が優先的に水酸化された。また、2級炭素のみを有するアルカンでは水酸化体でとどまらず、ケト体に変換された (Run 7)。2級アルコールは収率良くケトンに酸化された (Run 8)。*cis* および *trans*-デカリンの競争反応では、*cis* 体が選択的に収率良く水酸化され、立体構造を保持した *cis*-デカリノールが得られた。この結果は、反応点の立体的かさ高さの相違により高い選択性が得られることを示している。

本アルカン酸化系の応用としてステロイド類の酸化も行った⁹。5β-コラン酸からは、選択的に 5β 水酸化体が高収率で得られた (Run 9)。5α-コレスタン-3-オンからは (a)、新規化合物である (b) および (c) の3種の酸化物が主に得られた (Run 10)。 (c) は X 線結晶構造解析により図の構造である

Table 3 Hydroxylation and/or ketonization of various alkanes and alcohols

Run	Substrate	Conditions	Product (Yields based on substrates) ^{a)}
1		cat. = RuTPP(CO) add. = HBr r.t., 6h	94% (2-keto 3-keto 4-keto) trace ^{d)}
2		cat. = RuTMP(O) ₂ add. = HBr 40°, 9h	77% (2-keto 3-keto 4-keto) 2-: 3% 3-: 2% 4-: 1%
3		cat. = RuTMP(O) ₂ add. = HCl r.t., 24h	68% 25% 1%
4		cat. = RuTMP(O) ₂ add. = HBr 60°, 4h	74% ^{b)} (90% ^{c)})
5		cat. = RuTPP(CO) add. = HBr r.t., 6h	72% ^{b)} (80% ^{c)})
6		cat. = RuTMP(O) ₂ add. = HCl r.t., 24h	88% n.d. ^{e)}
7		cat. = RuTPP(CO) add. = HBr r.t., 40h	77% 2%
8		cat. = RuTMP(O) ₂ add. = HCl r.t., 24h	88%
9		cat. = RuTMP(CO) add. = HBr r.t., 24h	70% 5%
10		cat. = RuTMP(CO) add. = HBr r.t., 24h	26% 12% 7%

These reactions were carried out under Ar in benzene ([substrate]=200 mM, [catalyst]=1 mM, HBr aq.(47%) or HCl aq.(36%) = 30ml/4, molecular sieves 4A = 100g/4). a) Determined by GLC. b) Isolated yield. c) Based on conversion. d) <0.5%. e) Not detected.

ことを決定している。20位の立体配置は原料の立体配置を保ったままそのC-H結合がC-OHに変換された形となっていた。以上のように、不斉中心となる炭素原子上の水酸化においては立体保持で水酸化できるため3級炭素が不斉である基質でも支障ない。他の疎水性の高い天然物の酸化を行うことによって適度な極性を有する新たな生理活性物質の一段階合成が期待できる。

4. 芳香環からのキノン合成¹⁰

次に通常酸化が困難な芳香族化合物の酸化も酸添加系で試みた¹⁰。本反応系ではフェノール誘導体の生成にとどまらず *p*-キノン誘導体にまで酸化した。ジメトキシベンゼンのオルト、メタ、パラ置換のもの反応性を比較すると、メタ体 >> オルト体 > パラ体とかなり反応性に差が見られた。さらに2つの置換様式を合わせ持つビフェニル型の

基質を反応させても、やはりメタ置換側のみが特異的に *p*-キノンに変換された (Run4,5)。

キノン合成試薬である cerium (IV) ammonium nitrate とはかなり反応の性質が異なり、本反応系は基質の構造選択性が高いことがわかった。さらに無置換の縮合芳香環を基質としても反応は進行した (Run 7)。本反応系は代謝物としてのキノン類が知られていることから代謝物標品の調製に利用が期待できる。またキノン類には種々の生理

活性を有する化合物が知られており、通常行にくい芳香環からの直接のキノン合成に有用と思われる。

5. まとめ

本研究は含窒素芳香族複素環 *N*-オキソド類をアルカン、芳香環およびオレフィン等の触媒酸化における酸化剤として用いることのできた最初の例である。強力な反応性を有する酵素 P450 をヒントにやはり強力な特徴ある触媒的酸化反応系の開発に導くことができた¹¹。本反応系は、不活性炭化水素を含めた各種基質に対し一般に高収率で選択的に酸化生成物を与えた。ポルフィリン錯体を用いている点 P450 の反応性との類似点も見られる。現在本反応系を用いた医薬品代謝物の一段階合成の検討も始めており、少なからず有用である感触を得ている。生成物が二次酸化を受けやすい場合があるためそれを防ぐことが今後の課題であるが、幅広い分野での様々な利用が期待できると考えている。

Table 4 Oxidation of aromatic compounds by ruthenium porphyrin-2,6-dichloropyridine *N*-oxide system

Run	Substrate	Catalyst and Additive	Product (Isolated yield)
1		Ru(TPP)CO HBr	97%
2		Ru(TPP)CO HBr	76%
3		Ru(TMP)CO HBr	74%
4		Ru(TMP)CO HBr	77%
5		Ru(TMP)CO HBr	46%
6		Ru(TMP)CO HBr	79%
7		Ru(TMP)CO HBr	40%

Reaction conditions: Substrate (1 mmol) : Ru(por) (2 μmol) : 2,6-dichloropyridine *N*-oxide (4 mmol) : 40% HBr or 36% HCl (30 μl) : molecular sieve 4A (200 mg) : benzene (2 ml) : Otherwise noted. Yield are based on substrates.

〔参考文献〕

- 1) For reviews: (a) Ortiz de Montelano, P. Ed.; "Cytochrome P450"; Plenum: New York, 1986. b) Meunier, B. *Chem. Rev.*, 1992, 92, 1411.
- 2) Ochiai, E., "Aromatic Amine Oxides"; Elsevier; Amsterdam, 1967 and references cited therein.
- 3) Higuchi, T.; Ohtake, H.; Hirobe, M., *Tetrahedron Lett.*, 1989, 30, 6545.
- 4) Nakagawa, H., Higuchi, T., Kikuchi, K., Urano, Y. and Nagano, T. *Chem. Pharm. Bull.*, 1998, 46, 1656
- 5) Ohtake, H.; Higuchi, T.; Hirobe, M., *Tetrahedron Lett.*, 1992, 33, 2521.
- 6) Higuchi, T.; Ohtake, H.; Hirobe, M., *Tetrahedron Lett.*, 1991, 32, 7435.
- 7) Ohtake, H.; Higuchi, T.; Hirobe, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 10660.
- 8) Ohtake, H.; Higuchi, T.; Hirobe, *Heterocycles*, 1995, 40, 867.
- 9) Shingaki, T.; Miura, K.; Higuchi, T.; Hirobe, M.; Nagano, T. *Chem. Commun.* 1997, 861-862
10. Higuchi, T.; Satake, C.; Hirobe, M. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 8879.
11. 樋口恒彦 有機合成化学協会誌 1995, 53, 633-644

New Products

ヘム型触媒による強力な酸化反応系

Ruthenium Porphyrin Complex[Ru-Porphyrin] 2, 6-Dichloropyridine 1-Oxide[N-Oxide]

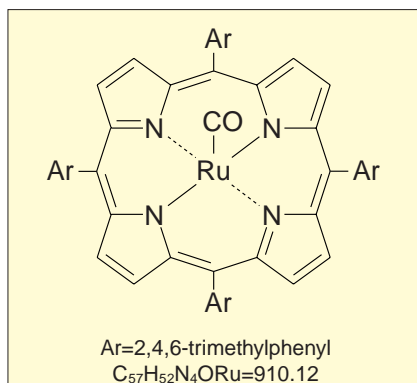
生化学用

■ 代謝物標品の調製に有効 ■

Ru-PorphyrinとN-Oxideの組合せによる酸化反応は、穏和な条件下で不活性なアルカンや芳香族化合物の酸化を効率よく行う等、強力な活性を有します。酸化反応による「代謝物標品」の調製などの薬物代謝の研究等で、幅広い応用が可能です。

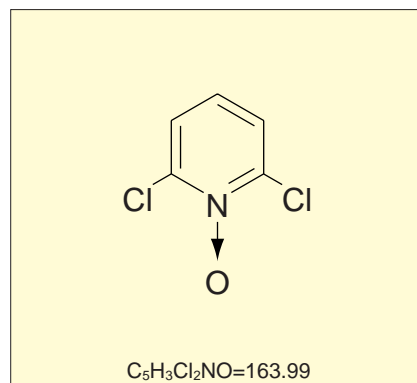
〔参考文献〕

樋口恒彦：有機合成化学協会誌，53，633-644(1995)



Ru-Porphyrin

188-01571 20mg 照会



N-Oxide

045-27671 60mg 照会

Ketoconazol

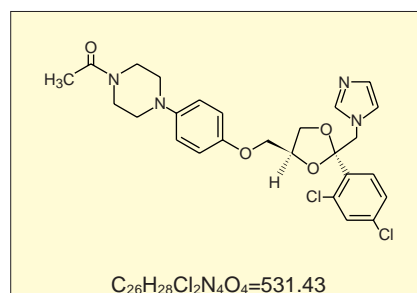
生化学用

Cytochrome P450 3A4 の阻害剤。Cytochrome P450 3A4 は、ヒトの肝臓に特に多く含まれており、薬物等の代謝に深く関わっているため、その阻害剤は薬物代謝の研究や創薬の研究に用いられます。

〔規格〕

エタノール溶状：試験適合
含量(TLC)：98%以上

116-00551 100mg 13,000円



P450 及び薬物代謝阻害研究に有効

Anti Cytochrome P450 (CYP), Monoclonal Antibody

各 CYP アイソタイプのモノクローナル抗体 (MAb) 4 品目です。阻害試験による CYP の同定等に有効です。

Anti CYP 1A1, MAb

免疫化学用

内 容 : 抗ヒトチトクローム P450 1A1 (CYP1A1), モノクローナル抗体を含むマウス腹水の凍結品です。安定剤、防腐剤は含みません。

クローン No.: 1-7-1

サブクラス : IgG₁

総タンパク質濃度 : ロット毎に表示

Ig 含有量 : ロット毎に表示

特 異 性 : ヒト CYP 1A1, 組換え体に反応 (他の CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5 とは反応しません。)

実用希釈倍数 : ウエスタンブロット 1:2,500
[0.75pmol の CYP1A1, 組換え体を用い反応]

阻 害 活 性 : 本品 4 μ l で CYP1A1, 組換え体, ミクロソーム (25pmol) による Phencetin O-demethylation を約 90% 阻害します。

〔貯 法〕 - 80 (凍結融解は繰り返さないで下さい。)

〔参考文献〕

Tassanccyakul, W. : *J. of Pharmacol. Exp. Ther.*, 265, 401 (1992)

540-00951 50 μ l 44,000 円

Anti CYP 2D6, MAb

免疫化学用

内 容 : 抗ヒトチトクローム P450 2D6 (CYP2D6), モノクローナル抗体を含むマウス腹水の凍結品です。安定剤、防腐剤は含みません。

クローン No.: 512-1-8

サブクラス : IgG₁

総タンパク質濃度 : ロット毎に表示

Ig 含有量 : ロット毎に表示

特 異 性 : ヒト CYP2D6, 組換え体に反応 (他の CYP 1A1, 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2E1, 3A4, 3A5 とは反応しません。)

実用希釈倍数 : ウエスタンブロット 1:2,500
[0.75pmol の CYP2D6, 組換え体を用い反応]

阻 害 活 性 : 本品 4 μ l で, CYP2D6, 組換え体, ミクロソーム (25pmol) による Bufuralol 1-hydroxylation 活性を 90% 以上阻害します。

〔貯 法〕 - 80 (凍結融解は繰り返さないで下さい。)

〔参考文献〕

1) Krausz, K. et al. : *Biochem. Pharmacol.*, 54, 15 (1997)
2) Gelboin, H. et al. : *Pharmacogenetics.*, 7, 469 (1997)

547-00961 50 μ l 44,000 円

Anti CYP 2D6i, MAb

免疫化学用

内 容 : 抗ヒトチトクローム P450 2D6i (CYP2D6i), モノクローナル抗体を含むマウス腹水の凍結品です。安定剤、防腐剤は含みません。

クローン No.: 50-1-3

サブクラス : IgG₁

総タンパク質濃度 : ロット毎に表示

Ig 含有量 : ロット毎に表示

阻 害 活 性 : 本品 6-8 μ l で, CYP2D6, 組換え体, ミクロソーム (25pmol) による Bufuralol 1-hydroxylation 活性を約 90% 阻害します。

〔貯 法〕 - 80 (凍結融解は繰り返さないで下さい。)

〔参考文献〕

Krausz, K. et al. : *Biochem. Pharmacol.*, 54, 15 (1997)

544-00971 50 μ l 44,000 円

Anti CYP 3A4/5, MAb

免疫化学用

内 容 : 抗ヒトチトクローム P450 3A4/5 (CYP 3A4/5), モノクローナル抗体を含むマウス腹水の凍結品です。安定剤、防腐剤は含みません。

クローン No.: 3-29-9

サブクラス : IgM

総タンパク質濃度 : ロット毎に表示

Ig 含有量 : ロット毎に表示

阻 害 活 性 : 本品 4 μ l でヒト肝臓ミクロソーム (50 μ g) の Testosterone 6-hydroxylation 活性を約 90% 阻害します。

〔貯 法〕 - 80 (凍結融解は繰り返さないで下さい。)

〔参考文献〕

Gelboin, H. et al. : *Biochem. Pharmacol.*, 50, 1841 (1992)

541-00981 50 μ l 44,000 円

汎用型 HPLC 装置を使用した場合のカラムサイズとカラム性能の関係

和光純薬工業株式会社 大阪研究所 上森 仁志

近年、移動相に使用する有機溶媒の使用量削減を目的として、分析用カラムのダウンサイジング化が急速に進んでいる。ダウンサイジング化の方法としては、カラム内径を細くする方法とカラム長さを短くする方法があり、筆者はこれまでに、それぞれの方法の有用性と使用時の注意事項を本誌にて紹介してきた¹⁾。しかし、両方法とも従来型の HPLC 装置を使用した場合には、その性能が十分に発揮されない現象が認められたので、今回、その原因の調査とカラムサイズとカラム性能の関係について検討を行った。Wakosil-II5C18RSを充てんした内径の異なるカラム(2mm I.D. × 150mm, 3mm I.D. × 150mm, 4.6mm I.D. × 150mm)を調製し、表 1. に示した条件によりカラムの基本性能を測定した。その結果を表 2. にまとめて示したが、(1) 通常使用されている内径 4.6mm カラムでは HPLC 装置の影響をほとんど受けない、(2) カラムサイズが小さくなるに従ってカラム性能は低下する、(3) その現象は LC-6A において顕著である、(4) オートインジェクターの利用は全般的にカラム性能を低下させる、との結果になった。カラムサイズが小さくなるに従ってカラム性能が低下する最大の要因は、充てん剤の絶対量に対する装置の空隙率(カラム空隙とセル容量も含んだインジェクターから検出器までの全容量 / 充てん剤の絶対量)であり、この空隙率をどれだけ減少させられるかが焦点と考えられた。k' 値はこの空隙率の指標となり、k' 値が小さい値を示す程、空

隙率が大きく、結果としてカラム性能は低下していた。今回の検討において一番驚いたことは、オートインジェクターの利用によるカラム性能の低下であった。ハード面がどのような構造になっているのか不明であるためコメントのしようはないが、使用者側からすれば改善をお願いしたい事項である(既に改善済かもしれないが)。以上、汎用型 HPLC 装置を使用した場合のカラムサイズとカラム性能の関係について紹介した。今回の検討において、LC-6A などの汎用型 HPLC 装置に内径 2.0mm カラムを接続して使用する場合には、著しい性能の低下が認められ、ダウンサイジング化の限界は内径 3mm 程度までと考え

られた。その時のクロマトグラムの変化を図 1. に示した。

[参考資料]

- ・本誌 Vol.61, No.3(1993)に「セミマイクロロー領域におけるカラムサイズの影響」
- ・本誌 Vol.65, No.2、No.3(1997)に「セミマイクロカラムの有用性と使用時の注意事項」
- ・本誌 Vol.66, No.1(1998)に「地球にやさしい HPLC 分析」

Table 1. HPLC Conditions

Column I.D.	2mm	3mm	4.6mm
Column Length	150mm		
Packing	Wakosil-II5C18RS		
Eluent	CH ₃ CN/H ₂ O = 60/40 (v/v)		
Flow rate(mL/min)	0.2	0.5	1.0
Sample	(1) Uracil (2) Benzene (3) Naphthalene		
Injection Volume(μL)	2	5	10
Column Temp	35		
HPLC System	Shimadzu LC-6A, LC-10A		
Tube I.D.	0.25mm		
Flow Cell	Std. Type		
Manual Injector	Rheodyne 7125		

Table 2. Correlation of Column performance and Column size

LC-6A Auto Injection				LC-10A Auto Injection			
Column I.D.	2mm	3mm	4.6mm	Column I.D.	2mm	3mm	4.6mm
N	5,400	8,000	12,300	N	7,500	9,400	13,100
k'	2.68	3.24	3.65	k'	3.14	3.53	3.80
As	1.23	1.15	1.09	As	1.20	1.17	1.10

LC-6A Manual Injection				LC-10A Manual Injection			
Column I.D.	2mm	3mm	4.6mm	Column I.D.	2mm	3mm	4.6mm
N	7,000	9,600	13,600	N	8,600	10,300	13,800
k'	2.81	3.32	3.70	k'	3.26	3.60	3.78
As	1.19	1.09	1.10	As	1.08	1.04	1.15

N = Theoretical Plates, k' = Capacity factor, As = Asymmetry factor. N, k', As are calculated with last peak.

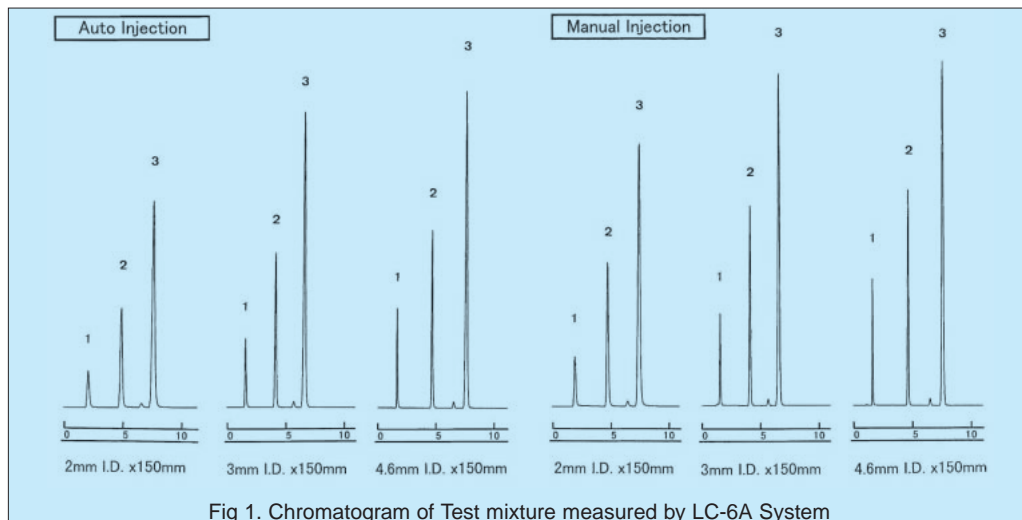


Fig 1. Chromatogram of Test mixture measured by LC-6A System

HPLC 用カラム

ワコーパック® Wakosil- 5CN

粒子径 5 μ m 高純度シリカゲルにシアノプロピル基を導入後、エンドキャッピング処理した充てん剤です。順相・逆相の両モードで使用が可能であり、ODS (C18) 充てん剤とは異なる分離が得られる可能性があります。

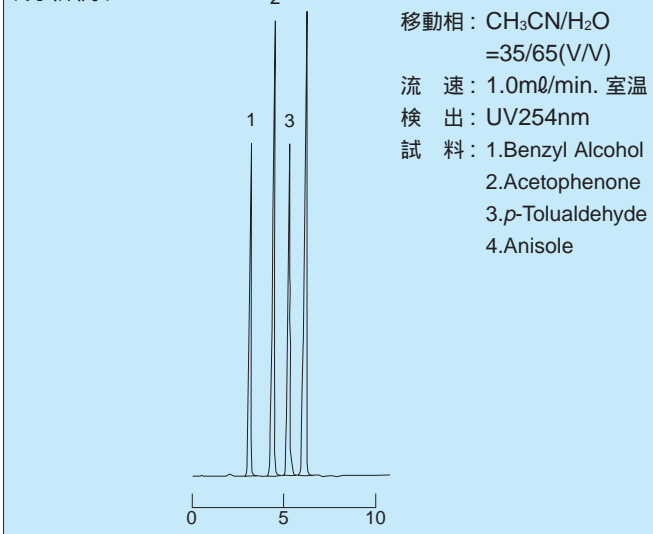
〔特長〕

高純度シリカゲル使用

内径 1.0mm ϕ ~ 20mm ϕ の各カラムサイズに対応

カラムサイズ	カラムタイプ	希望納入価格 (円)
4.0 × 150mm	デュボンウォーターズ	45,000
4.0 × 250mm		48,000
4.6 × 150mm		45,000
4.6 × 250mm		48,000

〔分析例〕



HPLC 用カラム

ワコーパック® Wakosil- C18、カラム内径 3mm シリーズ

ワコーパック Wakosil- C18 シリーズの内径 3mm ϕ カラムです。

3mm ϕ カラムは、4.6mm ϕ カラムに比べ移動相の使用量が約 1/2 程度、感度は 2 倍程度アップします。

廃液の低減からも環境にやさしいカラムです。

〔Wakosil-II シリーズの特長〕

1. 高純度シリカゲル使用
2. 使用時のカラム圧力が低い
3. 特色ある 3 種類の充てん剤をラインアップ

HG タイプ.....

モノメリック ODS、高理論段数

RS タイプ.....

水分比率の高い移動相溶離液での高分離・高保持能

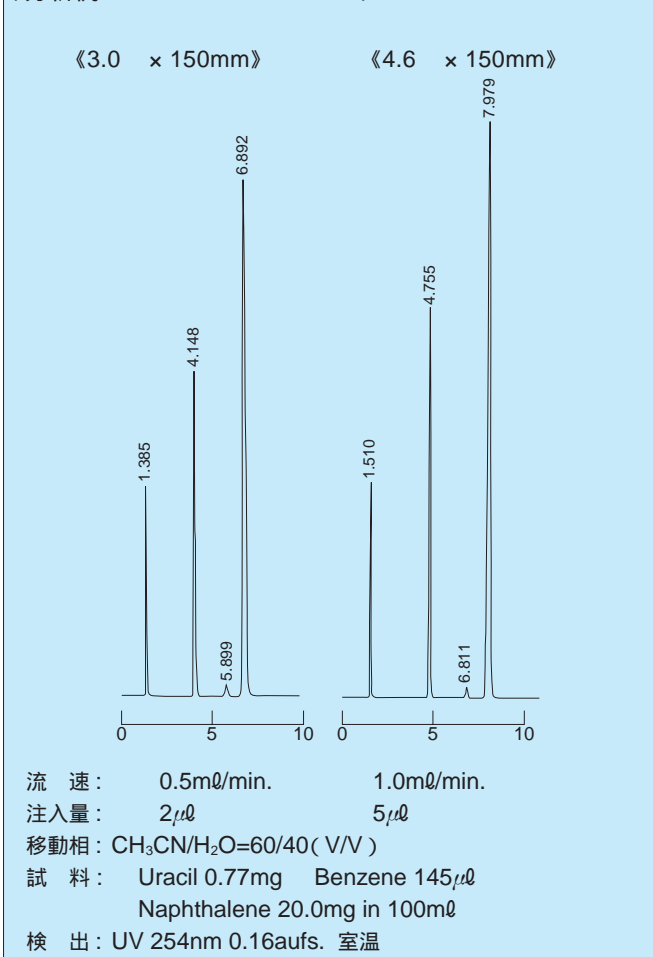
AR タイプ.....

ポリメリック ODS、耐酸性、耐アルカリ性にすぐれる

〔シリカゲルの物性〕

	3C18 シリーズ	5C18 シリーズ
粒子径 (μ m)	3	5
細孔径 (nm)	12	

〔分析例: Wakosil-II 5C18HG〕



充てん剤名		Wakosil-II 3C18 シリーズ (3 μ m)			Wakosil-II 5C18 シリーズ (5 μ m)		
カラムサイズ	記号	HG	RS	AR	HG	RS	AR
3.0 × 75mm	ヌ	42,000	42,000	42,000	—	—	—
3.0 × 150mm	ケ	47,000	47,000	47,000	45,000	45,000	45,000
3.0 × 250mm	フ	—	—	—	48,000	48,000	48,000

第 10 話 アポトーシスと疾患 -AIDS-

従来ウイルス感染の細胞死は、ウイルスの複製や放出に伴う機械的な要因によって引き起こされる偶発的な物であり、典型的なネクローシスのひとつと考えられていた。ところが最近になり、ウイルス感染細胞死の多くが遺伝的に制御された細胞死であるアポトーシスと密接に関係していることが明らかになってきた。すなわち感染細胞が積極的にアポトーシスを引き起こすことでウイルス複製が中断され、かつアポトーシスを起こした細胞が貪食されることによりウイルスが生体内から感染細胞ごと排除されるという概念である。一方でウイルスは、感染細胞のアポトーシスを抑制することで自身の増殖を可能にしている。そのためウイルスゲノムにはアポトーシスを阻害する遺伝子がさまざまにコードされていて、その分子機構は細胞死受容体からのシグナル伝達の阻害、Bcl-2 類似の機能、転写の調節、そしてカスパーゼの阻害と多岐にわたっている。表 1 に現在までに明らかになっているウイルスとその遺伝子産物をまとめた。

AIDS は HIV (human immunodeficiency virus) の感染によって CD4⁺T 細胞が減少し、患者の免疫不全が引き起こされる疾患である。AIDS においては CD4⁺T 細胞の減少が免疫不全への進行と相関するが、この CD4⁺T 細胞の減少にアポトーシスが関与している⁽¹⁾。HIV は CD4 を受容体として感染するので、当初は HIV の感染が CD4⁺T 細胞の減少の原因であると考えられていた。ところが HIV 感染 CD4⁺T 細胞の割合は全リンパ球の 0.1% に満たないほど低いことや⁽²⁾、HIV 感染者では HIV 感染細胞より非感染細胞がより死滅している⁽³⁾ ことから、HIV の CD4⁺T 細胞への直接感染

表 1.

ウイルス	産成タンパク質	アポトーシスの調節	調節機構
インフルエンザ	?	誘導	Fas
HIV	tat	誘導 / 阻害	
	nef	誘導	Fas-L の誘導
	gp120	誘導	TNF-TNFR
HTLV-1	tax	誘導 / 阻害	
ワクシニアウイルス	SPI-2	阻害	カスパーゼ阻害
牛痘ウイルス	CrmA/SPI-2	阻害	カスパーゼ阻害
ミキソーマウイルス	M-T2	阻害	viral FLIP
HHV-8	KSBcl-2	阻害	viral Bcl-2
	K13	阻害	viral FLIP
ヘルペスウイルス	ORF-16	阻害	viral Bcl-2
EB (Epstein-Barr) ウイルス	LMP-1	阻害	Bcl-2 の発現誘導、TRAFs への結合
アデノウイルス	BHRF-1	阻害	viral Bcl-2
	E1A	誘導	p53 , Rb 蛋白への結合
	E1B 55K	阻害	p53 の機能阻害
	E1B 19K	阻害	viral Bcl-2
パピローマウイルス	E4	誘導	p53 非依存
	E2	誘導	転写因子
	E6	阻害	p53 の機能阻害
SV40	Large T 抗原	誘導 / 阻害	Rb, p53 の機能阻害
		誘導	CTL の誘導

が CD4⁺T 細胞の減少の主原因でないことが示された。その分子機構については現在解析が進んでいるが、HIV 感染細胞は抗 Fas 抗体に対する感受性が上昇していることから⁽⁴⁾、Fas-FasL (リガンド)系を介したアポトーシスが機能していることが考えられはじめた。実際、各臨床ステージ (AC, ARC, AIDS) の HIV 感染者および非感染者末梢血リンパ球における Fas 蛋白の発現をフローサイトメーターで分析すると健常人では 30% 程度にすぎない Fas 陽性細胞が、HIV 感染者では病態の進行に伴って有意に増加する⁽⁵⁾。また、健常人では PBMC の Fas 陽性細胞はそのままでは Fas の刺激によるアポトーシスは起こらないが、HIV 感染患者では短時間のうちにアポトーシスが誘導される。インターフェロン (IFN) や TNF は Fas の誘導物質であることが明らかになってお

り⁽⁶⁾、HIV 感染においても IFN などが Fas の誘導に関与しているものと考えられる。

Fas 陽性細胞のアポトーシスには生体内では、Fas-L が作用していると考えられる。Fas-L は一部が細胞膜から遊離した形で存在することが知られており (可溶性 Fas-L) 必ずしも Cell-to-Cell でアポトーシスを誘導しているかは明らかでない。AIDS 患者における FasL の発現を患者末梢血から RNA を抽出し RT-PCR 法で定量すると、HIV 感染者では非感染者に比べて Fas-L の発現が高く、CD4 細胞が最も急速に減少する ARC 期に最も高い Fas-L の発現が見られることが明らかになった (図 1)。Fas-L の誘導機構についてはいまだ明らかではないが、HIV の tat や⁽⁷⁾nef⁽⁸⁾が関与しているという報告がある。

また、HIV のエンベロープ蛋白であ

る gp120 がアポトーシスを引き起こすことが知られている。gp120 がマクロファージの CXCR4 レセプターに結合すると膜結合型 TNF- α が誘導され、一方で CD8⁺T 細胞上の CXCR4-R に結合した gp120 は TNFR-II を誘導し、このマクロファージが CD8⁺T 細胞を殺すことが、最近明らかになった⁽⁹⁾。

AIDS に関する治療法は近年多剤併用療法の確立により飛躍的に進歩して平均生存期間の大幅な延長が見ら

れるようになってきてはいるものの、いまなおその根本的な治療法が確立していない難病である。アポトーシス研究の進展により AIDS におけるリンパ球減少を抑制する対策が生まれることが期待される。

〔参考文献〕

1. Badley AD, Dockrell D, and Paya CV: Apoptosis in AIDS. Adv. Pharmacol. 41:271-294, 1997.
2. Chen TW et al: Quantification of

latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. Nature, 387:183-188, 1997.

3. Finkel TH et al: Apoptosis occurs predominantly in bystander cells and not in productively infected cells of HIV-and SIV-infected lymph nodes. Nature Med. 186:7-16, 1997.
4. Kobayashi N et al: Anti-Fas monoclonal antibody is cytotoxic to human immunodeficiency virus infected cells without augmenting viral replication. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:9620-9624, 1990.
5. McCloskey TW et al: Expression of the Fas antigen in patients infected with human immunodeficiency virus. Cytometry 22:111-114, 1995.
6. Watanabe-Fukunaga R et al: The cDNA structure, expression and chromosomal assignment of the mouse Fas antigen. J. Immunol. 148:1274-1279, 1992.
7. Wendorp MO et al: Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp120. Nature 375:497-500, 1995.
8. Collins KL et al: HIV-1 nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. Nature 391: 397-401, 1998.
9. Herbein G et al: Apoptosis of CD8⁺T cells is mediated by macrophages through interaction of HIV gp120 with chemokine receptor CXCR4. Nature 395:189-194, 1998.

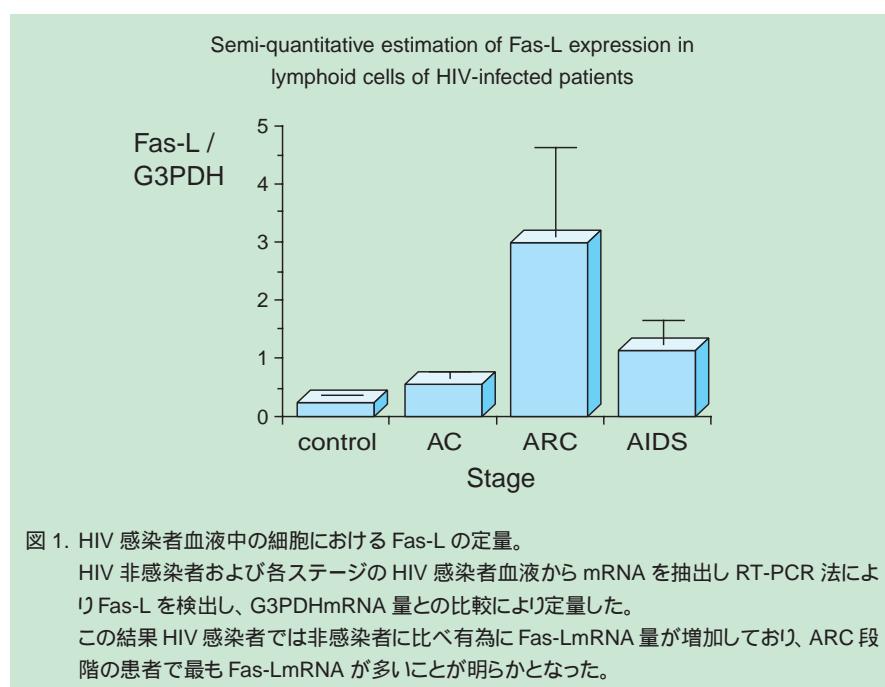


図 1. HIV 感染者血液中の細胞における Fas-L の定量。
HIV 非感染者および各ステージの HIV 感染者血液から mRNA を抽出し RT-PCR 法により Fas-L を検出し、G3PDH mRNA 量との比較により定量した。
この結果 HIV 感染者では非感染者に比べ有為に Fas-L mRNA 量が増加しており、ARC 段階の患者で最も Fas-L mRNA が多いことが明らかとなった。

New Products

ろ過滅菌済みアプロチニン溶液

Aprotinin Solution

生化学用

アプロチニンは、分子量 6,512 の塩基性ポリペプチドで、カリクレイン、キモトリプシン、トリプシン、プラスミンの活性を阻害します。タンパク質精製などの際にプロテアーゼインヒビターとして用いられます。本品は、使用に便利なる過滅菌溶液に調製されています。

起 源：ウシ肺製
形 状：0.9% NaCl 及び 0.9% ベンジルアルコールを含む過滅菌 (0.22 μ m) 溶液
活 性：6,000 ~ 7,000KIU/ml

018-18111	5ml	照会
014-18113	10ml	照会
012-18114	50ml	照会

〔関連商品〕

アプロチニン, ウシ肺製(粉末品)
生化学用
活 性：6,000 ~ 7,000KIU/mg

010-11834	50,000KIU	8,000 円
012-11833	100,000KIU	13,000 円
014-11832	200,000KIU	22,000 円
016-11836	750,000KIU	80,000 円

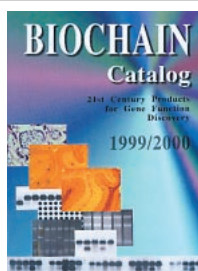
ヒト遺伝子機能解析の革命児



BioChain Institute, Inc. はヒト組織由来製品を多くラインナップするメーカーです。下記のリストにご希望の組織/製品が見つからない場合でも、受注生産できますので、お問合せ下さい(組織の種類により、入手しにくい製品がございますので、その場合はご容赦下さい)。

PCR Ready cDNA	PCR 用に、Oligo dT プライマーで合成された cDNA。
3' Race Ready cDNA	3' RACE 用に、アンカー配列を含む Oligo dT プライマーで合成された cDNA。
cDNA Panel	PCR による遺伝子発現解析用に、Oligo dT プライマーで合成された 5 種類の cDNA のセット。Total RNA から発現をほぼ完全に受け継いでいる。ハウスキープ遺伝子(β -actin)の発現を各組織で確認しているが、標準化は行っていない。
Total RNA	多糖類、プロテオグリカン、RNase を含まない高純度な Total RNA。
mRNA	ほぼ完全な 5' 末端領域を含む mRNA。
Total RNA Blot	高品質の Total RNA がプレプロットされたノーザンプロットメンブラン及びドットプロットメンブラン。
mRNA Blot	intactな mRNA がプレプロットされた高感度なノーザンプロットメンブラン。mRNA 量で標準化したタイプと、 β -actin 遺伝子の発現量で標準化したタイプがある。
Protein	全タンパク質、核タンパク質、膜タンパク質及び細胞質タンパク質の 4 種類の未変性タンパク質。ウイルス感染の危険性があるため、取扱いには十分な注意を要する。
Section Slide	<i>in situ</i> Hybridization・免疫組織化学分析用のパラフィン包埋切片及び凍結切片。

製品内容の詳細や価格/注文番号については、カタログ及び当社ホームページ(<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/life/biochain/biochainindex.htm>) 右側写真) をご覧下さい。



カタログに記載されている製品の包装/価格は予告なく変更される場合がありますので、ご容赦下さい。

写真: cDNA Panel における β -actin 遺伝子発現の PCR 定量分析と相応する Northern Blot 分析との比較

上のパネル: β -actin プローブでハイブリダイズした 7 種のヒト組織由来の Total RNA Northern Blot。各組織間で発現レベルに差がある。
 中のパネル: 上の Blot 上の各 RNA に相応する cDNA 1 μ l から PCR 増幅された β -actin の 1.7 kb 領域。
 下のパネル: さらにナイロン膜に転写し、上の Northern Blot において使用したプローブでハイブリダイズさせた。

各組織の発現が全てのパネルにおいて同様のパターンを示しているのは、BioChain 社による mRNA 精製・逆転写反応を経てなお、遺伝子発現がほぼ完全に受け継がれていることを示している。
 Lane 1-7: Brain, Kidney, Lung, liver, Pancreas, Spleen, Muscle

	ヒト由来組織		PCR Ready cDNA	3' Race Ready cDNA	cDNA Panel	Total RNA	mRNA	Total RNA Blot	mRNA Blot	Protein	Section Slide
1	Adipose	脂肪									
2	Abdominal	腹部									
3	adrenal	腎臓									
4	Angioma	血管腫									
5	Artery	動脈									
6	Appendix	虫垂									
7	Bladder	嚢									
8	Bone	骨									
9	Brain	脳									
10	Amygdala	小脳									
11	Artery	動脈									
12	Basal Ganglia	基底核									
13	Brain Stem	脳幹									
14	Cerebellum peduncles	小脳脚									
15	Cerebellum	小脳									
16	Cerebellum (left)	小脳(左)									
17	Cerebellum (right)	小脳(右)									
18	Cerebral Cortex	大脳皮質									
19	Cerebral meninges	大脳髄膜									
20	Choroid Plexus	脈絡集網									
21	Chrpus Callosum	脳梁									
22	Corpora mammillare	乳頭体									
23	Diencephaln	間脳									
24	Frontal lobe	前頭葉									
25	Hippocampus	海馬									

[次頁へ続く]

	ヒト由来組織	PCR Ready cDNA	3' Race Ready cDNA	cDNA Panel	Total RNA	mRNA	Total RNA Blot	mRNA Blot	Protein	Section Slide
26	Insula	島								
27	Medulla oblongata	延髄								
28	Mesencephalon	中脳								
29	Midbrain	中脳								
30	Occipital lobe	後頭葉								
31	Olfactory nerve	嗅覚神経								
32	Optic nerve	視神経								
33	Precentral Gyrus	中心前回								
34	Parietal lobe	頭頂葉								
35	Pineal Gland	松果腺								
36	Pituitary (hypophysis)	脳下垂体								
37	Pons	橋								
38	Postcentral Gyrus	中心後回								
39	Temporal lobe	側頭葉								
40	Thalamus	視床								
41	Tonsilla cerebelli	小脳扁桃								
42	Tuberculum cinereum	灰白結節								
43	Vermis cerebelli	ぜん虫								
44	Breast	胸								
45	Carotid Body	頸動脈小体								
46	Cecum	盲腸								
47	Colon	結腸								
48	Colon ascending	上行結腸								
49	Colon descending	下行結腸								
50	Colon transverse	横行結腸								
51	Sigmoid Colon	S状結腸								
52	Diaphragm	隔膜								
53	Ductum deferens	精管								
54	Duodenum	十二指腸								
55	Epididymis	精巢上体								
56	Esophagus	食道								
57	Fallopian tube	ファロピウス管								
58	Gallbladder	胆のう								
59	Great omentum	大網								
60	Heart	心臓								
61	Aorta valve	大動脈弁								
62	Arcus Aortae	大動脈の角膜								
63	Arteria Pulmonalis	心臓								
64	Atrium	心房								
65	Atrium,left	左心房								
66	Atrium,right	右心房								
67	Auricula,left	左心耳								
68	Auricula,right	右心耳								
69	Interventricularseptum	心室中隔								
70	Mitral valve	僧帽弁								
71	Papilla muscle	乳頭筋								
72	Pericardium	開心腔								
73	Pulmonic valve	肺動脈弁								
74	Tricuspid valve	三尖弁								
75	Ventricle	心室								
76	Ventricle,left	左心室								
77	Ventricle,right	右心室								
78	Hodgkin's Lymphoma	リンパ腫 (ホジキン病)								
79	Intestine	腸								
80	Kidney	腎臓								
81	Leiomyosarcoma	平滑筋肉腫								
82	Liver	肝臓								
83	Liver right lobe	肝臓(右)								
84	Liver left lobe	肝臓(左)								
85	Lung	肺								
86	Alveolus	肺胞								
87	Bronchium	気管支								
88	Right lung upper	右上肺								
89	Right lung middle	右中肺								
90	Right lung lower	右下肺								
91	Left lung upper	左上肺								
92	Left lung lower	左下肺								
93	Lymph node	リンパ腫								
94	Maxillary Gland	小あご腺								
95	Mediastinum	縦隔								
96	Mandibularis gland	大顎腺								
97	Melanoma	黒色腫								
98	Mesenchymoma	間葉腫								
99	Nerufibroma	神経繊維腫								
100	Neuroma	神経腫								
101	Neuriemmoma	神経鞘腫								
102	Non-Hodgkin's Lymphoma	リンパ腫(ホジキン病以外)								
103	Nose	鼻								
104	Oschea	陰のう								
105	Ovary	卵巣								
106	Pancreas	膵臓								
107	Parathyroid	副甲状腺								
108	Parotid	耳下腺								
109	Pars Cervicalis	頸部								
110	Pelvic	骨盤								
111	Penis	ペニス								
112	Perpheral Blood Leukocyte	末梢白血球								
113	Pericardium	心膜								
114	Oeripheral nerve	末梢神経								
115	Pharynx	咽頭								
116	Placenta	胎盤								
117	Prostate	前立腺								
118	Rectum	直腸								

第 39 話 非特異反応の観察方法

前回ご紹介したように、正常な反応タイムコースは非特異的な濁りとは区別ができ、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は非特異的濁りにエンドトキシンの反応が加わった反応タイムコースとなります。しかし、エンドトキシンや β -グルカンの混入量が非常に多い場合や非特異的濁りが非常に大きい場合には、非特異的濁りの程度を正確に把握することが困難になる場合があります。今回は、リムルス試験における非特異反応のみを観察する方法について考えてみましょう。

エンドトキシン及び β -グルカン測定における非特異反応の判別方法については、稲田らが報告しています¹⁾。その方法は、エンドトキシン活性の阻害剤としてポリミキシン B を、 β -グルカン活性の阻害剤として過剰のカルボキシメチル化カードラン (CM-カードラン) を使用し、本来の LAL 活性化物質の活性を抑制した状態で測定を行うというものです。すなわち、0.01% のポリミキシン B を試料に添加してエンドトキシンに特異的な測定を行ったり、0.2 mg/ml の CM-カードランを試料に添加して β -グルカンに特異的な

測定を行うと LAL の活性化以外の反応が観察できるというわけです²⁾。

エンドトキシンの活性がポリミキシン B によって阻害されることは広く知られています²⁾。筆者らも、トキシノメーターを用いたタイムコースの観察実験で、ポリミキシン B の添加によるエンドトキシン活性の抑制を行った経験があります³⁾。このとき、ポリミキシン B を入れすぎると反応液が濁り、測定が困難になりました。0.02% で濁りは観察されませんでしたので測定は可能でしたが、エンドトキシン量が多いと活性が完全に抑制されませんでした。稲田らの報告¹⁾でも、エンドトキシン活性が完全に抑制されない場合もあるようです。しかし、ポリミキシン B によりエンドトキシン活性は大きく抑制されるため、ほとんどの検体で非特異反応の観察が可能です。

稲田らは、 β -グルカンの活性を抑制した条件で β -グルカンを測定することにより、非特異反応が観察できると報告しています¹⁾。この方法は、大過剰の CM-カードランの添加で β -グルカンによる LAL の活性化を抑制してエンドトキシンに特異的な測定を行うリムルス ES-II テストワコーの原理⁴⁾と同じですが、本来測定しようとする物質の活性を抑えてしまうという、おもしろい発想だと思います。リムルス ES テストワコーシリーズが発売されて 10 年になりますが、その特異性で大きな問題は起こっていないことを考えると、この方法でほとんど完全に β -グルカン活性の抑制が可能と考えられます。

エンドトキシンや β -グルカンの測定においては「より高い値の出る測定法の方が、試料からの影響の少ない優れた方法」と捉えられる傾向があるように思われます。リムルス試験における

試料の影響として阻害が多いために、高い値の方が阻害の受け方が少ないと受け取られるのでしょうか。実際、阻害の影響を及ぼす物質は数多く存在しますし、試験結果が予想より低い値になることをよく経験します。しかし、測定への影響は、阻害のみではなく、促進や非特異反応もあるということを忘れてはなりません。また、測定法や試薬の違いによる測定値の差を評価する場合、試料から受ける影響の程度、エンドトキシンの種類による反応性、非特異反応の出方などの違いについても調べた上で結論を出す必要があります。稲田らの報告¹⁾は、測定法の違いによる測定値の乖離の原因を実験的に明らかにし、非特異反応を簡単に観察できる方法を提供した点で、高く評価できると思います。

トキシノメーターによるリムルス試験のバリデーションには、検量線の直線性と反応干渉因子試験を行います。より良いリムルス試験を行うためには、これらバリデーション項目に加え、稲田らの方法による非特異反応の観察、反応タイムコースの観察等の方法を駆使して、測定が受ける影響を把握しておく必要があると思います。

〔参考文献〕

- 1) 稲田捷也, 遠藤重厚: 医学と薬学, 42, 885 (1999)
- 2) Morrison, D. C., Macobes, D. M.: *Immunochem.*, 13, 813 (1976)
- 3) Tsuchiya, M., Oishi, H., Takaoka, A., Fusamoto, M. and Matsuura, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2523 (1990)
- 4) 土谷正和, 高岡 文, 時岡伸之, 松浦脩治: 日本細菌学雑誌, 45, 903-911 (1990)
- 5) Kakinuma, J., Asano, T., Torii, H. and Sugino, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101, 434 (1981)

今回は「第 40 話 エンドトキシンと Toll-like receptor」の予定です。



Estrogen-R()Competitor Screening Kit

環境分析用

ヒト型エストロゲンレセプター(ER) α は、分子量約70kのリガンド依存性転写因子です。エストロゲンと結合し、生殖に関わる内分泌系の調節やその細胞内代謝系に主要な役割を担っています。近年の化学工業の発展に伴って、エストロゲンに似た構造を持つ様々な化合物が、人間を含む多くの動物の体内でその内分泌システムを攪乱していることが問題となっています。様々な化合物のエストロゲンレセプターへの親和性を調べ、内分泌攪乱物質として作用する可能性を調べることで、環境汚染物質を同定することが重要な課題となっています。また、医薬品等の開発においても、薬剤のホルモン様作用を調べることは、新規な治療薬の開発に貢献すると期待されています。

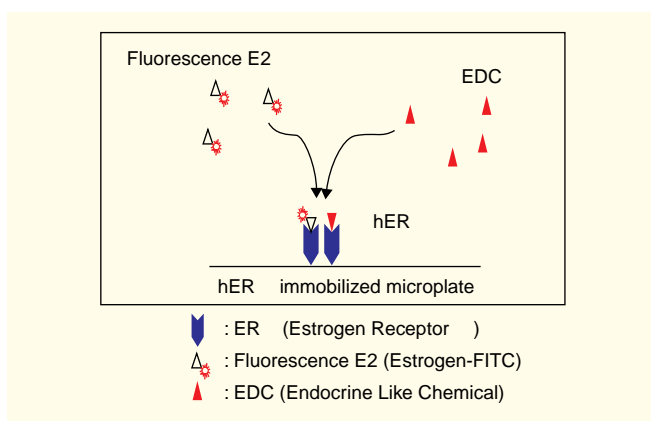
本キットは、ヒト型ER α を固相化したマイクロプレートと、蛍光標識されたエストロゲンを含む試薬の競合法によりER α に結合する内分泌攪乱物質を測定するためのキットです。親和性が強い化合物から弱い化合物まで幅広く、高感度に検出することができ、環境汚染物質の同定やモニタリング、或いは新規な治療薬の開発にも有用です。

〔特長〕

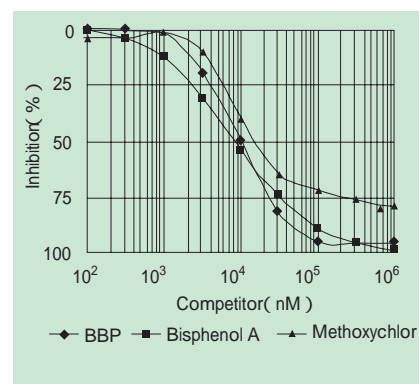
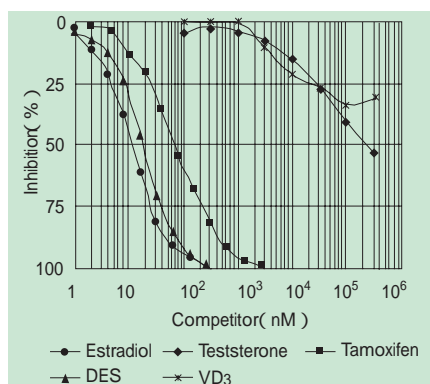
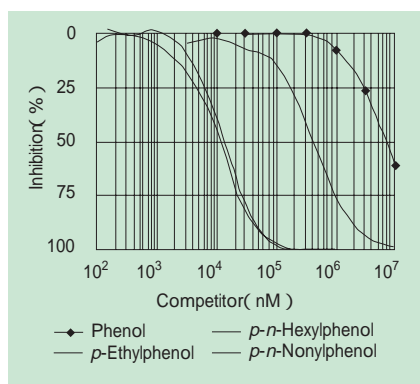
- (1) 蛍光リガンドを用いた競合分析法。ER α コートプレートで検体とER α の相互作用を直接測定。
- (2) 96穴プレートを用いて多検体同時測定が可能。
- (3) 抗原・抗体反応を使用しない簡単な方法で、操作時間は2.5～3時間。
- (4) 測定に必要な全ての試薬が揃っている。

〔測定原理〕

検体試料と蛍光標識エストラジオールを、固相化したER α へ添加し、競合反応させます。蛍光標識エストラジオールとER α との結合は、検体の持つER α 親和性とその濃度により影響を受け、各々検体特有の競合反応曲線を描きます。反応終了後、洗浄液によりフリーの蛍光試薬などを洗浄して、B/F分離を行います。最後に、固相化ER α に結合している蛍光エストラジオール量を蛍光検出し、それが50%置換された時の検体濃度をIC₅₀として各検体のER α 親和性を算出します。



〔各化合物による測定結果〕



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
295-56301	Estrogen-R()Competitor Screening Kit	環境分析用	96回用×2	60,000

武田薬品工業株式会社
生活環境カンパニー

タケダ環境汚染診断薬

Estrogen (E1/E2/E3)ELISA Kit 17 -Estradiol(E2)ELISA Kit

女性ホルモンである 17β- エストラジオール(E2)は、内分泌攪乱作用が示唆されている多くの化学物質に比べて約 10³ ~ 10⁴ 倍のエストロゲン活性(酵母 two-hybrid System)をもつといわれており、現在、河川及び下水における実態調査の測定対象となっています。

一方、環境中には E2 以外にも比較的活性の高いエストロゲンが存在し、例えば、ニジマスを用いたピテロジェニン生成試験において、エストロン(E1)は E2 の 0.2 ~ 0.5 倍程度の活性を有しています。下水処理場放流口付近では E2 の 5 ~ 20 倍濃度の E1 が現出されており、総エストロゲン活性における E2 以外の女性ホルモンの寄与も、今後無視できない問題になると考えられます。

このような理由から、エストロン、17β- エストラジオール、及びエストリオール(E3)のトータルを定量する「Estrogen ELISA キット(ES ELISA キット)」、及び 17β- エストラジオールのみを特異的に定量する「17β- Estradiol ELISA キット(E2 ELISA キット)」の 2 種類の女性ホルモン測定用キットを開発しました。

〔キットの特長〕

モノクローナル抗体を使用しているため、製造ロット間で抗体性能にばらつきがありません。

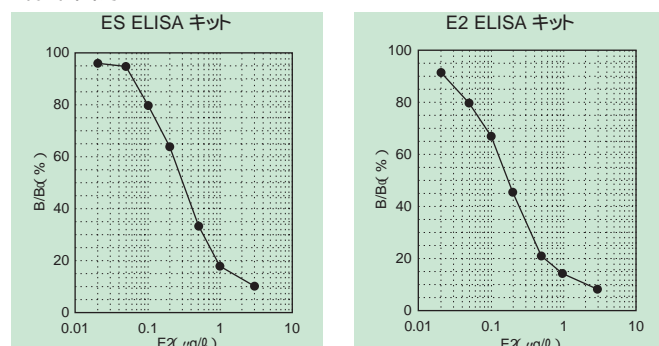
定量範囲は ES ELISA : 0.1 ~ 3μg/l (ppb)、E2 ELISA : 0.05 ~ 1μg/l (ppb)と高精度で、固相抽出により更に低濃度の試料も測定できます。

測定試料の調製から定量まで 2.5 時間で完了します。

測定値の CV(変動係数)は 10% 以下で、高精度です。

簡単な操作で多検体を同時に処理できるため、経済的です。

〔標準曲線〕



〔交差反応性〕

物質	交差反応性(%)	
	ES ELISA キット	E2 ELISA キット
Estron (E1)	87.0	1.3
2-methoxy E1	<0.03	<0.4
E1-3-sulfate	<0.03	1.0
17 -Estradiol (E2)	100.0	100.0
16-keto E2	118.0	16.0
2-methoxy E2	0.2	2.0
E2-17-glucuronide	5.0	<0.4
E2-3-glucuronide	<0.03	16.0
E2-3-sulfate-17-glucuronide	0.5	<0.4
Estriol (E3)	55.0	0.6
16-epi-E3	129.0	0.5
E3-16-glucuronide	48.0	<0.4

〔キット構成〕(ES, E2 キットに共通)

E2 標準原液(100μg/l 10% メタノール)	4mℓ	1 本
抗原酵素複合体粉末	7mℓ 用	2 本
抗原酵素複合体溶解液	8mℓ	2 本
発色基質溶液	250μℓ	1 本
発色基質希釈液	15mℓ	1 本
モノクローナル抗体固相化マイクロプレート	96well	1 枚
混合用マイクロプレート	96well	1 枚
6 倍濃縮洗浄液	50mℓ	1 本
発色停止液	15mℓ	1 本
使用説明書		1 部

吸光度の読み取りには、別途プレートリーダーが必要です。

〔操作方法〕

- 1) 測定試料をろ過、簡易固相抽出し、メタノール濃度 10% に調製します。
- 2) E2 標準原液を用いて標準液(ES ELISA: 0.1-3μg/l, E2 ELISA: 0.05-1μg/l)を調製します。
- 3) 抗原酵素複合体溶液を調製します。
- 4) 測定試料または標準液と、抗原酵素複合体溶液を混合します。
- 5) 上記混合液をモノクローナル抗体固相化マイクロプレートに分注し、抗原と抗体を 60 分間反応させます。
- 6) 洗浄液を調製します。
- 7) 未反応物を固相化プレートより除去し、洗浄液を用いて洗浄します。
- 8) 発色試薬を調製します。
- 9) 発色試薬を固相化プレートに添加し、30 分間発色反応後、発色停止液を添加します。
- 10) マイクロプレートリーダーを用い、波長 450nm で吸光度を測定し、検量線から試料中の対象物質濃度を算出します。

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
303-07761	916714	Estrogen ELISA キット(マイクロプレート)	1 キット(96 回用)	70,000
300-07771	916738	17 - Estradiol ELISA キット(マイクロプレート)	1 キット(96 回用)	45,000

プロスタノイドの中枢神経系での作用(1)

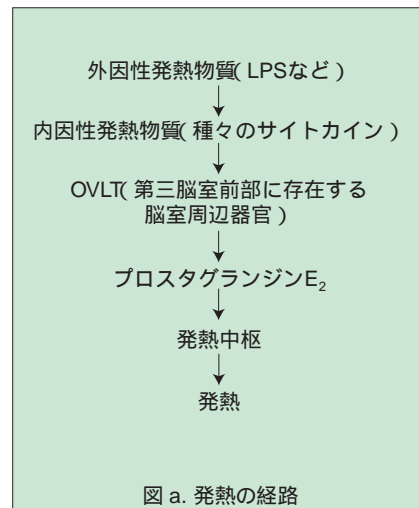
旭川医科大学 薬理学講座 牛首 文隆

プロスタノイドはアラキドン酸の代謝産物であり、プロスタグランジン(PG)とトロンボキサン(TX)より成る生理活性脂質である。プロスタノイドは、刺激に応じて合成され、その合成直後に細胞外に放出される。また、その生物学的半減期は短く、プロスタノイドは合成された局所で作用しそのホメオスタシスの維持や局所での病態形成に働くオートコイドと考えられる。一方、プロスタノイドは標的細胞上に存在する各々に特異的な受容体を介して、その作用を発揮する。これらには、PGD₂、PGE₂、PGF_{2α}、PGI₂、TXA₂に特異的な受容体として、各々DP、EP、FP、IP、TPが知られている。さらにEPにはEP₁、EP₂、EP₃、EP₄の4種類のサブタイプが存在する¹⁾。これらの受容体は、全てG蛋白質とカップルするロドプシン型受容体に属し、生体内で各々特異的な分布を示す。

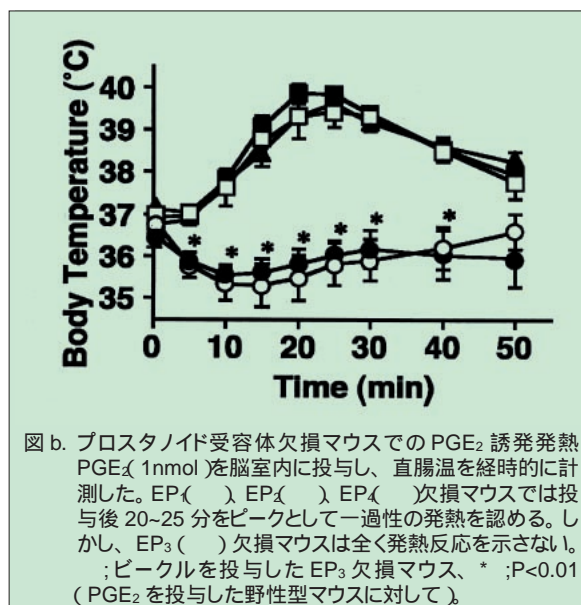
プロスタノイドは生体内において、多種多様な作用を示す²⁾。最も代表的なものは、種々のタイプの平滑筋の収縮や弛緩作用である。また、消化管の運動や分泌、生殖器系における排卵、受精、着床、分娩、腎臓におけるイオンや水の輸送を調整する。また、プロスタノイドは血小板の機能を調節し、血管のホメオスターシスの維持や止血にも重要な役割を果たす。さらに、プロスタノイドは炎症・免疫のレギュレーターであり、細胞のアポトーシス、分化・増殖あるいは発癌などにも関与する。一方、中枢神経系においてもプロスタノイドは産生され、多種類のその受容体が発現している。また、プロスタノイドの中枢作用として、発熱や睡眠が知られている。本稿では次稿とともに、プロスタノイドの中枢作用を中心に、最近の知見を含めて紹介する。

発熱は炎症性疾患や感染症の主要な徴候であり、菌体成分である

lipopolysaccharide(LPS)などの外因性発熱物質により惹起される(図a)。これらの外因性発熱物質はinterleukin(IL)-1 β 、IL-6などの内因性発熱物質の産生を刺激し、これらが脳に作用する。内因性発熱物質の作用部位として、脳室周辺器官であり第三脳室前部に存在するorganum vasculosum lamina terminalis(OVLT)が想定されている。この部位では、血液-脳関門が欠如しており、血液中の生理活性物質が脳の組織に直接作用することが可能である。内因性発熱物質は、この部位に作用してPGE₂の産生を惹起し、PGE₂は近傍の神経細胞に作用することにより発熱を惹起すると考えられていた。しかし、PGE₂が発熱の最終メディエーターであるという点に関しては多くの議論がなされてきた。また、PGE₂の発熱作用がPGE₂受容体の4種類のサブタイプのうちどれを介して発揮されるのかについても不明であった。そこで、4種類のEP受容体サブタイプの各々を欠損したマウスを用いてPGE₂や内因性・外因性発熱物質の発熱作用が解析された³⁾。PGE₂の脳室内投与によりEP₁、EP₂、EP₄欠損マウスでは各々野性型マウスと同様の発熱反応が出現した。しかし、EP₃欠損マウスでは全く発熱反応が認められなかった(図b)。同様に代表的な内因性発熱物質であるIL-1 β やLPSによる発熱も、EP₃欠損マウスで特異的に欠如していた。これらの結果、外因性・内因性発熱物質による発熱にはEP₃を介してPGE₂がその共通のメディエーターとして働く



図a. 発熱の経路



図b. プロスタノイド受容体欠損マウスでのPGE₂誘発発熱。PGE₂(1nmol)を脳室内に投与し、直腸温を経時的に計測した。EP₁(○)、EP₂(□)、EP₄(◇)欠損マウスでは投与後20~25分をピークとして一過性の発熱を認める。しかし、EP₃(●)欠損マウスは全く発熱反応を示さない。○、□、◇:ピークルを投与したEP₁欠損マウス、* ;P<0.01 (PGE₂を投与した野性型マウスに対して)。

ことが明らかになった。

プロスタノイドは、炎症時の疼痛にも関与する⁴⁾。そのため、プロスタノイド生合成の律速酵素であるシクロオキシゲナーゼの阻害薬であるアスピリンなどのNSAIDsが、古くから鎮痛薬として用いられてきた。この場合プロスタノイドは、それ自身が疼痛のメディエーターとして作用するのではなく、末梢神経終末の発痛物質であるブラジキニンなどに対する反応性の閾値を低下させることにより、疼痛過敏を

引き起こす。一方、プロスタノイドは中枢性にも疼痛の制御に働く。特に、脊髄レベルでの神経可塑性が係わるアロディニアへの関与が挙げられる。アロディニアは、臨床的には慢性疼痛などに認められる反応であり、通常の触覚刺激が疼痛として感受されるものである。この現象の成立には、何種類かのプロスタノイドが係わっており、最近PGD₂の役割がその合成酵素(L-PGDS)欠損マウスを用いて解析された⁵⁾。L-PGDSは脊髄の軟膜とoligodendrocytesに発現していた。また、PGE₂やPGF_{2α}を野性型マウスの脊髄腔内に投与するとアロディニアが発現した。しかし、L-PGDS欠損マウスでは、PGE₂によって誘発されるアロディニアが特異的に欠失していた。また、何種類かの興奮性あるいは抑制性の神経伝達物質がアロディニアを惹起することが知られている。検討された

これらの物質のなかでGABA_A受容体拮抗薬であるbicucullineによるアロディニアがL-PGDS欠損マウスで特異的に消失していた。さらに、野性型マウスで見られるPGE₂やbicucullineによるアロディニアは、PGD₂受容体アンタゴニストであるBW A868Cによって完全に抑制され、内因性のPGD₂が関与することが示された。これらの結果、PGD₂がPGE₂やGABA_A受容体を介するアロディニアの形成に重要であること、その作用点がglutamate-NO系の上流に位置することが示された。またこの結果は、記憶などの高次中枢における神経可塑性へのプロスタノイドの関与の可能性を間接的に示唆している。

〔参考文献〕

1) Narumiya, S., Sugimoto, Y. and Ushikubi, F.: *Physiol. Rev.*, 79, 1193 (1999)

2) Coleman, R. A., Kennedy, I, Humphrey, P. P. A., Bunce, K. & Lumley, P. In: J.C.Emmett (Ed.), *Comprehensive Medicinal Chemistry, Vol. 3: Membranes and Receptors*. Pergamon Press, Oxford, UK, pp. 643 (1990)

3) Ushikubi, F., Segi, E., Sugimoto, Y., Murata, T., Matsuoka, T., Kobayashi, T., Hizaki, H., Tuboi, K., Katsuyama, M., Ichikawa, A., Tanaka, T., Yoshida, N. and Narumiya, S.: *Nature*, 395, 281 (1998)

4) Murata, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Hirata, M., Yamazaki, A., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Aze, Y., Tanaka, T., Yoshida, N., Ueno, A., Oh-ishi, S. and Narumiya, S.: *Nature*, 388, 678 (1997)

5) Eguchi, N., Minami, T., Shirafuji, N., Kanaoka, Y., Tanaka, T., Nagata, A., Yoshida, N., Urade, Y., Ito, S. And Hayaishi, O.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96, 726 (1999)

New Products

NO 研究用酵素

NO(nitric oxide)の作用標的分子として知られているsGC(可溶性グアニル酸シクラーゼ)は、NOがsGCのヘムに結合すると立体構造が変わり、酵素活性が100倍以上に増強され、cGMPの合成を促進します。その結果生じたcGMPが、血管系では血管弛緩をもたらし、神経系では逆行性の神経情報を伝達し、また脳虚血時の神経細胞死を引き起こすことが報告されています。

soluble Guanylate Cyclase (sGC) Solution

生化学用

起 源：ウシ肺

形 状：30% グリセロール溶液

濃 度：1mg/ml

活 性：約 13,000nmole/min/mg

分子量：74,000(αサブユニット)

69,000(βサブユニット)

〔参考文献〕

Tomita, T. et al.: *J. Biochem.*, 122, 531 (1997)

076-04661 5μg 30,000 円

〔関連商品〕

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
019-17801	Anti sGC, Monoclonal Antibody, NO-sensitive (Clone mAB3221)	20μg	30,000
017-18201	Anti sGC, Monoclonal Antibody, NO-insensitive (Clone mAB28131)	20μg	30,000

Nitric Oxide Synthase, inducible (iNOS), Solution

生化学用

起 源：マウスマクロファージ

形 状：グリセリン溶液

活 性：約 7units/mg protein

分子量：130,000

148-07111 50units 15,000 円

COX-2 特異的抗体新発売!

Anti Mouse COX-2, Rabbit

免疫化学用

ラット、マウス、ヒトの共通シーケンスを認識するペプチド抗体です。

014-18071 100μl 20,000 円

ナイロンファイバーカラム T(L-タイプ)

T細胞分離用

本品は、ナイロンファイバーカラム法を用いた T 細胞分離用カラムです。現在ご好評頂いておりますナイロンファイバーカラム T はカラム容量が 0.5g であり、サイズの的にはマウスの T 細胞分離に適しています。今回、ラットやウサギにも使用できるカラム容量が 1.0g の L-タイプが新発売となりました。検体により使い分け下さい。

〔原理〕

ナイロンファイバーカラム法は、Julius¹⁾、増田等²⁾によって開発された T 細胞精製法です。この方法は、B 細胞がナイロンファイバーに親和性を持つことを原理としています。そのため、細胞群に損傷を与えることがなく、また、ナイロンファイバーに B 細胞が選択的に吸着することにより、雑多な細胞集団より比較的純粋な T 細胞群を回収できるという利点があります。

〔分離能試験方法〕

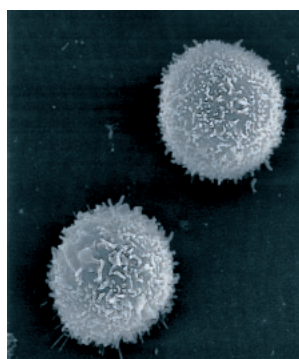
1. 材料

ラット脾臓より分離した細胞浮遊液(2 ~ 4 × 10⁸ 個 / ml)

[T 細胞比率 30 ~ 35% B 細胞比率 55 ~ 65%]

2. 分離操作手順

操 作	手 順
(1) ナイロンファイバーカラム T(L-タイプ) 調製-1 MEM 20ml	ナイロンファイバーカラム T(L-タイプ) を 37 に加温した MEM 20ml で洗浄し、ナイロンファイバーを湿潤させる。(カラム中に空気が残らないように注意する。)
(2) ナイロンファイバーカラム T(L-タイプ) 調製-2 MEM/5% FCS(37) 約 15ml	ナイロンファイバーカラム T(L-タイプ) に約 15ml の MEM/5% FCS(37) を流し、MEM がナイロンファイバーに浸みこんだ状態でコックを閉める。
(3) 細胞浮遊液の添加 細胞浮遊液 (2 ~ 4 × 10 ⁸ 個 / ml)	あらかじめ MEM/5% FCS(4) にて調製しておいた細胞浮遊液 2ml (2 ~ 4 × 10 ⁸ 個 / ml) をのせ、コックをゆっくり開いて細胞浮遊液をナイロンファイバー全体に浸透させた時点でコックを閉める。
(4) 付着 MEM/5% FCS(37) 1ml	MEM/5% FCS(37) 1ml をカラムに加え、上部をアルミ箔で覆い、カラムを垂直に保持してフランキ内で 37、45~60 分インキュベートする。
(5) 細胞採取 MEM/5% FCS(37) 20ml	インキュベート後 MEM/5% FCS(37) 20ml を加えながら、コックを調節しできるだけゆっくり(3~4ml/分) 滴下させ、落ちてくる細胞浮遊液を滴下しなくなるまで遠心管に集める。(あくまで自然落下、加圧しないこと。)



◀ Rat : T cells

(写真提供：近畿大学 生物理工学部 齋藤卓也先生)

3. 検定法

遠心管に集めた細胞液中の B 細胞混入率を検定する。

B 細胞混入率 [蛍光抗体法]

一次抗体として抗ラット Ig(ヤギ)、二次抗体として FITC 標識抗ヤギ Ig を用いる。

4. 規格

項 目	規 格
細胞回収率	25 ~ 35%(ラット)
B 細胞混入率	15% 未満

参考値

細胞回収率：20 ~ 30%(ヒト)、25 ~ 30%(ウサギ)

B 細胞混入率：5% 未満(ヒト、ウサギ)

〔貯 法〕 遮光保存

〔包 装〕 10 本

〔備 考〕 本品は、電子線滅菌品です。

〔参考文献〕

1) Julius, M. H., Simpson, E. and Herzenberg, R. A. : *Eur. J. Immunol.*, 3, 645(1973)

2) 栗林景容、高林有道、増田 徹：「免疫実験操作法」, 146(日本免疫学会 1976)

143-07041 1.0g/カラム×10本 25,000 円

〔関連商品〕

ナイロンファイバーカラム T

T 細胞分離用

147-06721 0.5g/カラム×10本 23,000 円

脱水剤

モレキュラーシーブスパック 3A、4A

エタノールやキシレンなどの脱水目的に使用されるモレキュラーシーブスを使いやすい25gのパック包装にしました。



細孔径	対象溶剤
3A	メタノール、エタノール、2-プロパノール
4A	キシレン、アセトン、トルエン、ベンゼン、DMSO

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
131-13531	モレキュラーシーブスパック 3A(粒径:約 1.9mm)	病理研究用	25g × 10	4,200
138-13541	モレキュラーシーブスパック 4A(粒径:約 3.6mm)	病理研究用	25g × 10	4,200

〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-08645	モレキュラーシーブス 3A 1/8	-	500g	2,900
134-06095	モレキュラーシーブス 3A 1/16	-	500g	2,900
130-08655	モレキュラーシーブス 4A 1/8	-	500g	2,900
137-06085	モレキュラーシーブス 4A 1/16	-	500g	2,900
* 5A、13X タイプも取揃えております。ご照会下さい。				
205-13741	組織脱水溶液	病理研究用	9ℓ	5,500
203-13747	(モレキュラーシーブスパック 3A 入り)		18ℓ	9,800
202-13871	組織脱水溶液 A(エース)	病理・細胞診研究用	9ℓ	6,900
200-13877	(モレキュラーシーブスパック 3A 入り)		18ℓ	10,500
245-00717	キシレン, モレキュラーシーブスパック 4A 入り	病理研究用	15kg	5,000

T4 RNA Ligase

遺伝子研究用

ATP の存在下でオリゴヌクレオチドの 5'-リン酸基末端と 3'-OH 基の間の 3', 5'-ホスホジエステル結合形成を触媒します。RNA の 3'-末端標識、RNA と RNA のライゲーションや完全長 cDNA のクローニングに使用されます。

形状: 50mM Tris-HCl(pH 7.5), 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% Glycerol

活性: ラベルに記載

単位の定義: 37 30分間で、1nmol の 5'-[³²P]-Poly(A)₁₂₋₁₈ の 5'-リン酸基末端を、ホスファターゼ抵抗性に変換させる酵素量を 1unit とする。

〔包装〕 T4 RNA Ligase 1,000units(約 200μℓ)
10mM ATP Solution 200μℓ
10 × Reaction Buffer 200μℓ

10 × Reaction Buffer の組成
330mM Tris Acetate (pH 7.8), 660mM Potassium Acetate, 100mM Magnesium Acetate, 5mM DTT

〔貯法〕 -20

189-01501 1,000units 15,000 円

RNase

遺伝子研究用

本品は、大腸菌由来の組換え体酵素で、RNA の 3' 末端がどのリボヌクレオチド (A, G, C, U) でも、一本鎖 RNA のジヌクレオチド結合を分解して 5' ヒドロキシ, 2', 3' サイクリック-リン酸を遊離させます。

形状: 10mM Tris-HCl(pH 8.0), 100mM NaCl, 50% Glycerol

活性: ラベルに表示

単位の定義: 37 度で、2μg の酵母 RNA を基質として ³²P ラベル化した *in vitro* 転写産物(mRNA) を 50% 分解する酵素量を 1unit とする。

〔参考文献〕

- 1) Spahr, P. F. and Hollingworth, B. R. : *J. Biol. Chem.*, 236, 823(1961)
- 2) Meador, J. and Kennell, D. : *Gene*, 95, 1(1990)

186-01511 10,000units 14,000 円

非脱灰硬組織の樹脂包埋に最適

オステオレジン™ 包埋キット

病理組織包埋用

近年、硬組織分野の研究において、特にその無機塩の存在や分布・石灰化度の違いを知るために非脱灰標本の作製が不可欠なものになってきています。より安全で且つ手軽に非脱灰硬組織を樹脂包埋できる製品の必要性は高まっています。

本キットは非脱灰硬組織の樹脂包埋キットとして開発しました。特長として、樹脂重合開始剤に当社が独自で開発した V-601* を用いています。樹脂は疎水性樹脂のメタクリル酸メチル、モノマー (MMA) を基剤としています。得られた非脱灰硬組織の切片は脱樹脂後、一般染色をはじめ、ピラヌエバ骨染色、免疫組織染色などの硬組織標本作製に使用できます。

キット内容

- i) 樹脂基剤 (メタクリル酸メチル, モノマー: MMA) 500ml
- iii) 脱樹脂剤 (1-アセトキシ-2-メトキシエタン: AME) 500ml

非脱灰樹脂包埋標本作製法 (概要)

1. 固定

- 方法 1. 40% エタノール 4 24 時間
70% エタノール 4 24 時間 ~ 7 日間
- 方法 2. 10% 中性緩衝ホルマリン 4 48 時間 ~ 2 週間

2. 洗浄

30 分間流水洗浄し、水分をよく拭き取る

3. 脱水・脱脂

- 70% エタノール 100% エタノール
- 80% エタノール 100% エタノール
- 90% エタノール

(各 室温 24 時間 最初 30 分間は真空引きする)

4. 中間剤処理

- キシレン 室温 24 時間 (最初の 30 分間は真空引きする)
- キシレン 室温 3 日間 (最初の 30 分間は真空引きする)



◀ 歯牙・顎骨部 (イヌ)

アリザリンレッド: 石灰化骨 (赤茶色)
アルシアンブルー: 軟骨 (青色)
ヘマトキシリン: 核 (濃青紫色)
(× 200)



* V-601 重合開始剤は非ニトリル系アゾ化合物であり、従来から用いられている過酸化ベンゾイル化合物と比較して一般に衝撃に対して安定で、爆発などの危険性も少なく、操作・輸送及び保管中の取扱いが安全です。しかしながら、熱分解によって急激な反応が進行し窒素ガスを発生することがありますので取扱いには十分注意して下さい。

- ii) 重合開始剤 (V-601) 1g × 5
- iv) コロジオン (10%) 100ml

5. 樹脂浸透

- 適当なガラス容器に浸透液を作製し、組織を浸漬する。
4 24 時間 (最初の 30 分間は真空引きする)
新しい浸透液に交換する。
4 1 週間 (毎日、最初の 30 分間は真空引きする)

* 浸透液の作製方法: 樹脂基剤 (MMA) 100ml に対し重合開始剤 (V-601) 1g を溶かして下さい。

6. 包埋

樹脂浸透が完了した組織を包埋容器に入れ、標本が隠れる程度に新しい浸透液を加える。30 2 日間 要密栓

7. 薄切

タングステンカーバイトナイフを装着した樹脂専用のマイクロトームを用い、ブロック面に 30% エタノールを塗りながら、2 ~ 5µm の間で薄切する。

8. 伸展

96% エタノールに切片を入れ、5 ~ 10 分程度放置して伸展させる。

9. 脱樹脂

脱樹脂剤を切片上に十分量滴下する。10 分後、この液を除去し、自然乾燥する。
脱樹脂剤に浸漬する。1 時間 × 2

以下、パラフィン切片同様に染色、封入して下さい。

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
297-56001	OsteoResin™ Embedding Kit	1kit	20,000

(関連商品)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
221-01351	ピラヌエバ骨染色試薬	病理研究用	500mg × 10	15,000
222-01445	ピラヌエバ骨染色液	病理研究用	500ml	9,500

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。

記載価格は希望納入価格であり消費税等は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 4 月 15 日
発行責任者 岸井松司
編集責任者 大西礼子
印刷所 共進社印刷株式会社