

WAKO 和光純薬時報

和光純薬工業株式会社



高速液体クロマトグラフ用

りん酸塩溶液

本品は吸光度・蛍光性物質などを保証しており、高速液体クロマトグラフ用の溶離液として最適です。

規格

	Na ₂ HPO ₄	K ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	NaH ₂ PO ₄
濃度	0.24 ~ 0.26 mol/l			
吸光度	220nm: max.0.08 230nm: max.0.04 240nm: max.0.02 254 ~ 400nm: max.0.01		220nm: max.0.02 230 ~ 400nm: max.0.01	
pH(25)	8.8 ~ 9.4		4.2 ~ 4.6	
蛍光試験	試験適合			

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
041-27715	0.25mol/l Dipotassium Hydrogenphosphate Solution	500ml	3,000
048-27725	0.25mol/l Disodium Hydrogenphosphate Solution	500ml	3,000
168-19965	0.25mol/l Potassium Dihydrogenphosphate Solution	500ml	3,000
197-12135	0.25mol/l Sodium Dihydrogenphosphate Solution	500ml	3,000

目次

化学大家
「三崎嘯輔」 芝 哲夫2
総説
「アクチビンの作用とその制御」
杉野 紀志子、杉野 弘6
「合成ペプチドを使った培養細胞へのトランスフェクション法」 新留 琢郎10
シリーズ
< Talking of LAL >
「第40話 エンドトキシンと Toll-like receptor」
土谷 正和25
<How to アポトーシス>
「第11話 (最終回)アポトーシスと免疫」
中島 泉18
<脳科学ーロメモ>
「プロスタノイドの中枢神経系での作用(2)」
牛首 文隆20
テクニカルレポート
「5% 含水シリカゲルの商品化と性能評価結果」
上森 仁志32
新製品フラッシュ
りん酸塩溶液1
(株)シバヤギ 自己抗体価測定キット、クラリスロマイシン5
アクチビン、ホリスタチン、タウタンパク質溶液9
トランソーム™、ペプチドタイプ、エンブリオマウス cDNA13
DNA アイソレーター PS- ラビット試液、エキソヌクレアーゼⅨ14
GFP、BFP 発現ベクター15
ピラヌエバ骨染色液16
アポトーシス研究用抗体 他19
スクロチオリン、抗マウス COX-2、ウサギ 他21
ACE、ACE 阻害剤、スタチン試薬22
プロテインキナーゼC、プロテインキナーゼ阻害剤 他23
セレノ-DL- メチオニン、界面活性剤、CBB24
PIERCE 社 スライド-A- ライザー26
ワコーパック® WS- 3C8RS、Mallinckrodt Baker, Inc. スピーディスクラム用加圧プロセッサー28
DPD 試薬、活性塩素-DPD テストコー 他29
7種農薬混合標準液、HPLC用標準液、ダイオキシン類分析用溶媒30
8種フタル酸エステル混合標準液、アフラトキシンセット31
5% 含水シリカゲル、環境分析用ジクロロメタン、エーテル、BSTFA33
16種DNPH混合標準液、プレセップ®-C DNPH 他34
残留溶媒試験用高純度溶媒35
アネキシン -フルオレセイン染色キット、抗ラット iNOS、モノクローナル抗体 他36
Q&A
オステオレジン™ 包埋キット17

三 崎 嘯 輔 (1847 ~ 1873)

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

今年(2000年)は日蘭交流400年に当り、両国で多彩な行事がくりひろげられている。交流400年というのはオランダ人が初めて日本に到来したのが、慶長5年(1600)4月19日であったことにもとづいている。この日一隻のオランダの帆船リーフデ号が豊後、現在の大分県臼杵市佐志布の海岸に漂着し、その船長ウィリアム・アダムスと航海長ヤン・ヨーステンは徳川家康に重用されて、ヨーロッパの知識を江戸開府に役立てたのが日蘭交流のはじまりであった¹⁾。

以後、寛永16年(1639)に始まる鎖国体制のもとでも、唯一の西欧国として、オランダは長崎出島を通じて、日本との貿易、文化交流を続けて、ヨーロッパに始まった近代化の波をアップ・ツウ・デイトに日本に伝えてくれたことが、奇跡的な日本の近代化の成功の鍵となったのである。

日本における化学のはじまりもオランダを抜きにしては語れない。化学という学問の存在を、蘭書を通じて知った宇田川榕菴がその畢生の労作として『舎密開宗(せいみかいそう)』の著述を始めたのが天保8年(1837)で、それは弘化3年(1846)の榕菴の死をもって完結しなかった^{2,3)}。その後、万延元年(1860)には幕府の蕃書調所内に精煉方(化学方)の設置、文久元年(1861)の川本幸民の『化学新書』の著述⁴⁾など、蘭学者による化学知識の吸収が鋭意進められたが、所詮それらは文書研究の域を出るものではなかった。

実験を伴う本格的な化学のわが国への導入は長崎におけるオランダ人科学者の活動に俟たねばならなかった。長崎における近代化学の伝授は嘉永2年(1849)のオランダ医ファン・デル・ブルック Van den Broek が河野禎造にオランダのクラマー・ホンメス K.Kramer Hommes の定性化学分析



写真1. 三崎嘯輔

書を与え、これが河野によって『舎密便覧』として翻訳されたのが資料に残る最初である⁵⁾。その後、医学伝習の一環として蘭医ポンベ J.L.C.Pompe van Meerdervoort、ついでボードウィン A.F.Bauduin によって医学教育の基礎としての化学の講義が実施されたが⁶⁾、これらはいずれも医学者の副業としての化学教育であった。ボードウィンが医学教育とは切り離れた独立の化学教育が必要であることを長崎奉行を通じて幕府に建言し、それが容れられてわが国最初の化学専門教師として招聘されたのがハラタマ Koenraad Wolter Gratama であった^{1,7)}。

ハラタマは慶応2年(1866)4月に来日し、長崎の医学校精得館の傍に建てられた分析究理所においてはじめて化学の専門教育を行った。このハラタマの化学講義を受講した者の多くは精得館の医学生達であったが、それとは別に幾人かの化学者がこの中から育つことになり、後にベルリン大学ホフマン研究室に留学した松本銈太郎、東京大学鉱山学教授になる今井巖らの名を挙げることができる。このハラタマのオランダ語の講義を通訳して日本人学生に伝えたのが三崎嘯輔であった。

三崎嘯輔は弘化4年(1847)5月11日に福井の医家三崎草庵の末子として生まれた。宗元、尚史、尚之、嘯とも称した。福井藩に出仕後、文久3年(1863)に江戸に出て、緒方洪庵の適塾出身の大鳥圭介に就いて蘭学を学んだ。大鳥は江川塾や開成所で蘭学を講義するくらいの高い実力を持っていたから、三崎はここで蘭書を読みこなす能力を十分獲得したと思われる。しかし当時の蘭学教育では会話は無視されていたから、三崎がハラタマの口述を同時通訳するほどのオランダ語の聴き取り能力をどのようにして身につけたかが不思議である。わずかに想像を許されるならば、三崎より少し前に長崎でポンベに就学して、その講義を理解できた語学の天才司馬凌海との関係である。史実の上では司馬と三崎との出会いを証するものはない。しかし僅か5年を隔てて長崎でオランダ人教師の講義の通訳という同じ仕事をした偶然以上に、司馬の諱、盈之に通じる尚之の名を名乗った三崎に司馬凌海を標榜する気持があったとしてもおかしくない。慶応2年(1866)長崎でハラタマの講義を通訳した三崎は19歳であった。分析究理所にはハラタマの講義のオランダ語を理解できるもう一人の学生松本銈太郎⁸⁾がいたが、後のハラタマの離日まで終始その傍を離れず、通訳の任に当たったのは三崎であった。

長崎の分析究理所でのハラタマの化学教育は半年余で幕を閉じ、ハラタマは江戸開成所内に新設される予定の理化学学校に赴任するために、慶応3年(1867)1月に長崎を発った。この時三崎もハラタマに同船して江戸に移った。予定より遅れて理化学学校の建築工事が始まった直後に江戸は維新の戦乱の舞台となり、結局ハラタマも三崎も為すところなく1年余を江戸で空費した。

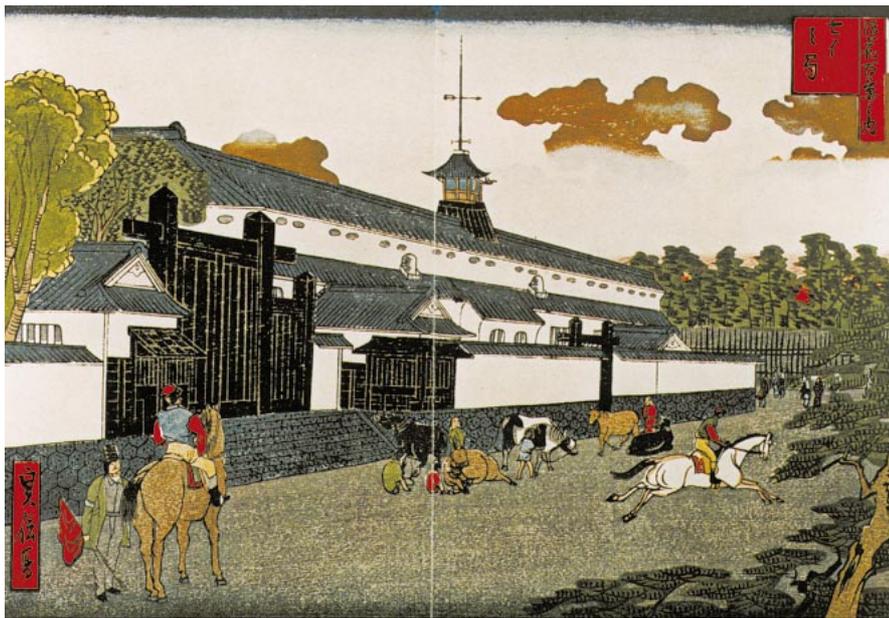


写真2. 舎密局錦絵



写真3. 舎密局開校記念写真。前列右より2人目 ハラタマ、その右側 三崎嘯輔、左側2人目 ボードウィン。

明治元年(1868)江戸幕府に代った明治政府は、長崎、江戸で成らなかった新学校の構想を大阪で実現しようとして、まずハラタマを江戸より招いた。三崎と共に大阪に入ったハラタマは大阪城西の地に舎密局(せいみきょく)すなわち化学学校の新設を計画した。その開局に備えて、ハラタマは連日三崎と共に、オランダから輸送され、長崎、江戸と回送されてきた実験器具、薬品を詰めた400余箱をはじめて開いて整理、補修の作業を2ヶ月続けた。

明治2年(1869)5月1日、舎密局は創立の日を迎え、ハラタマは大阪府知

事以下の役人、各国領事の来賓ら約200人の聴衆の前で、開校記念講演を行った。その全文が三崎によって訳されて『舎密局開講之説』として刊行された。その内容は日本文としても格調高く、西欧学術の発祥、発達より説き起して、東西学問の性格の違い、化学の将来の予測にまで及び、この国における理化学の重要性を強調した⁷⁾。

舎密局では教頭ハラタマの下で、三崎は松本銈太郎と

共に大助教に任命された。舎密局の開校記念写真(写真3)に三崎はハラタマの傍に礼装で写っている。舎密局職員録には「格致学化学講授記述 三崎大助教」と記されていて、専らハラタマの物理学・化学の講義通訳・翻訳を任としていたことがわかる。

ハラタマは開校日の翌週から毎日理化総論の講義を行った。これも逐一三崎によって訳されて4巻より成る『理化新説』として明治3年(1870)に刊行された。第1巻の内容は理化総論、第2巻は物理学各論、第3巻は化学各論、第4巻は化学元素論より構成されている。開校2ヶ月後にはハラタマにより講義実験も開始された。毎日午前、午後の講義の通訳、筆録整理、翻訳書執筆に三崎は多忙をきわめたことと思われる。

ハラタマは舎密局での講義のかたわら、近くの川崎に開設される造幣寮のために、金銀貨幣の化学分析法の講義も行った。この講義録も三崎により明治5年(1872)上下2巻の『金銀精分』として刊行された。

ハラタマは明治3年(1870)12月に舎密局での契約期限が終了して、翌年日本を発ってオランダへ帰国した。来日以来5年間、三崎は常にハラタマの身边を離れず、通訳の任に当った。その経験から三崎自身深く化学の習得、伝達に使命感を持つに至り、独自に化学に関する著書、訳書を多く残した。

まず明治3年(1870)刊行三崎嘯輔訳『試薬用法』2巻はドイツのフレゼニ



写真4. 『試薬用法』

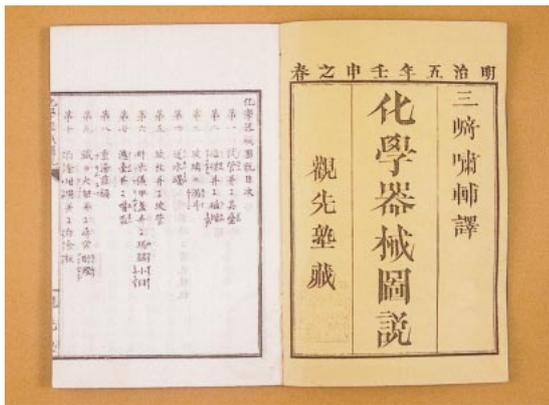


写真5. 『化学器械圖説』



写真6. 『試験階梯』

ウス K. R. Fresenius の『定性分析入門』“Anleitung zur Qualitativen Chemischen Analyse”(1841)の翻訳で、湿式、乾式両法の解説である。次に明治4年(1871)刊行の『薬品雑物試験表』1巻は当時の輸入薬品の粗悪品を見分ける目的で、三崎が同じくフレゼニウスの書より各種試薬、薬品に混入する雑物の名とその試験法を抜粋して表にして出版したものである。

三崎はハラタマが舎密局を去った後、明治4年(1871)に東京の大学東校予科の大助教に任命された。ここで化学実験の講義を担当して、初学者に実験器具の用法を説く必要に迫られ、『化学器械圖説』1巻(写真5)を明治5年(1872)に著した。これには各種の化学実験器具を図示して解説している。三崎はこの他に『定性試験升屋』の著書もある。明治7年(1874)には『試験階梯』(写真6)5巻内外2篇を刊行しているが、これもフレゼニウスの分析書に拠ったものである。この書の序言は明治5年(1872)に書かれて

いて、注目すべきはその巻頭に「獨逸 弗列撰紐斯 著。日本 三崎嘯輔 譯」と書かれていて、この書は蘭訳を通さず、直接上記フレゼニウスのドイツ語原書よりの訳と思われる点である。三崎と同じ福井出身で後年政治家となる杉田定一は明治6年(1873)頃、東京の三崎嘯輔塾でドイツ語を学んだという記録⁹⁾があるから、当時三崎はオランダ語から転じてドイツ語を得意としていたことが明らかで、『試験階梯』がドイツ語原本からの翻訳としても不思議でない。

三崎はわが国におけるそれまでの蘭書翻訳による西欧化学の知識の吸収というパターンを乗り越えて、直接ドイツ化学のわが国への導入をはかった最初の人として評

価されてよい。また三崎はこれにはじめにオランダ語、ついでドイツ語を駆使して、ハラタマの薫陶を最も親しく受けて、化学実験特に分析化学を主体とする実質的な化学教育をわが国に実施しようとした先覚者であるともみなされる。三崎の貢献がなければ、ハラタマによる近代化学の日本への紹介とその影響はあり得なかったと思われ、日本の化学の出発に当り、その功績は忘れられるべきでない⁹⁾と考える。

明治6年(1873)5月、三崎は福井に帰郷して同月11日に結婚した。その後直ちに離婚したと伝えられていて、同月15日に急死している。26歳になったばかりであった。その死がいかに唐突であるので、その調査のために筆者は先年、福井の三崎の墓(写真7)がある安養寺を尋ねて墓前に顔つき、住職に聞いて福井市内の三崎家子孫を探し当ることができたが、遂に三崎家には嘯輔の事蹟を伝える記憶は何も残っていなかった。

舎密局の影響を何らかの形で受け

た人々の中からアドレナリンの高峰謙吉、味の素の池田菊苗、エフェドリンの長井長義などがわが国化学の先覚者が輩出している一方で、直接ハラタマの教えを受けた舎密局の教員の松本銈太郎、三崎嘯輔、岸本一郎らがいずれも30歳を待たずに早世したことは、日本の化学の出発に当って惜しみても余りある痛恨事である。

〔参考文献〕

- 1) 芝哲夫:『日本の化学とオランダ』、化学、55(4)、27(2000)
- 2) 芝哲夫:『日本の化学を開いた』『舎密開宗』、化学、55(10)、21(1998)
- 3) 芝哲夫:『宇田川榕菴の舎密開宗未刊部分の復元』、化学史研究、25(1)、66(1998)
- 4) 川本幸民:『化学新書』化学古典叢書1、化学史学会、菜根出版、平成10年2月25日
- 5) 芝哲夫:『河野禎造』和光純薬時報、61(3)、2(1993)
- 6) 芝哲夫:『長崎におけるA.F. ボードウインの舎密学傳習講義録』、化学史研究、22(3)、239(1995)
- 7) 芝哲夫:『ハラタマと日本の化学』、化学史研究、1982年第1号(No.18)、1(1982)
- 8) 芝哲夫:『松本銈太郎』、和光純薬時報、64(3)、2(1996)
- 9) 石橋重吉編:『若越文化史』、咬菜文庫。



写真7. 福井安養寺の三崎嘯輔墓

Shibayagi 自己抗体価測定キット

自己免疫疾患を自然発症する実験動物や、人工的に炎症を発症させた実験動物を使用して自己免疫疾患を対象とした新薬の開発が進められています。自然発症する代表的なマウスの系統としては MRL/lpr マウスが用いられています。MRL/lpr マウスはリンパ節腫瘍とともに腎炎、血管炎、関節炎を高率に発症するのでヒト慢性関節リウマチのモデル等、自己免疫疾患の発生機構を解明する有効なモデルとなっています。

MRL/lpr マウスの血清中に検出される自己抗体には IgG 型リウマチ因子(RF-IgG)、IgM 型リウマチ因子(RF-IgM)、抗 ssDNA 抗体、抗 dsDNA 抗体、抗 Sm 抗体等があります。

今回、シバヤギよりマウス、ラットの自己抗体を ELISA 法により測定するキットを販売します。

〔特長〕

1. 短時間(5時間以内)で測定可能
2. 微量な検体量(1 ~ 5 μ l)で測定可能
3. 環境にやさしい防腐剤を使用
4. すべての試薬が溶液タイプで即座に使用可能
5. 高度な再現性

〔キット構成〕

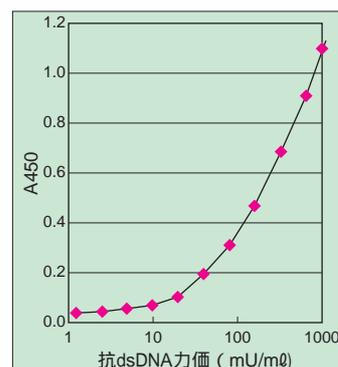
1. 抗原固相化プレート	96 ウエル	1 枚
2. 標準溶液(10U/ml)	100 μ l	1 本
3. 緩衝液	60ml	1 本
4. 標識抗体(HRP 標識)	20 μ l	1 本
5. 発色剤(TMB)	12ml	1 本
6. 反応停止液(0.5M H ₂ SO ₄)	12ml	1 本
7. 濃縮洗浄液(10 \times)	50ml	1 本

〔操作方法〕

イムノグロブリンまたは抗原固相化プレート	
◀ 洗 浄	
検体または標準抗体	100 μ l/well
室温 2時間反応	
◀ 洗 浄	
POD標識抗体	100 μ l/well
室温 2時間反応	
◀ 洗 浄	
発色液	100 μ l/well
室温 20分反応	
反応停止液	100 μ l/well
測定(450nm)	

*室温 20~25

〔抗体価標準曲線〕



〔精度〕

タイプ (N=30)	同時再現性 (平均 C.V 値%)	日差再現性 (平均 C.V 値%)
マウスリウマチ因子 IgG 型	6.9	8.7
マウスリウマチ因子 IgM 型	8.1	7.6
マウス抗 dsDNA KIT	4.2	4.7
マウス抗 ssDNA KIT	4.6	4.9

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
633-02671	AKRRG-101	レビス リウマチ因子 IgG 型- マウス ELISA KIT	96 回用	80,000
630-02681	AKRRG-111	レビス リウマチ因子 IgM 型- マウス ELISA KIT	96 回用	80,000
637-02691	AKRDD-061	レビス 抗 dsDNA- マウス ELISA KIT	96 回用	80,000
630-02701	AKRSD-051	レビス 抗 ssDNA- マウス ELISA KIT	96 回用	80,000
637-02711	AKRDD-060	レビス 抗 dsDNA- ラット ELISA KIT	96 回用	80,000
634-02721	AKRSD-050	レビス 抗 ssDNA- ラット ELISA KIT	96 回用	80,000

マクロライド系抗生物質

Clarithromycin

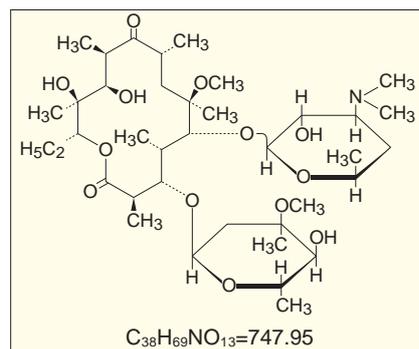
生化学用

クラリスロマイシンは、細菌の 70S リボソームの 50S サブユニットと結合し、タンパク質合成を阻害することにより抗菌作用を示すマクロライド系抗生物質です。ブドウ球菌、連鎖球菌等による感染症の研究にご利用頂けます。

〔規格〕

クロロホルム溶状：試験適合
力価(脱水物換算)：960~1,040 μ g/mg

032-17871	100mg	7,000 円
038-17873	500mg	25,000 円



アクチビンの作用とその制御

徳島大学分子酵素学研究センター 杉野紀志子、杉野 弘

1. はじめに

1980年代の半ば頃、脳下垂体前葉ホルモンである卵巣刺激ホルモンFSHの合成分泌を調節するペプチド性因子が発見され多くの関心を集めた。FSHの分泌を特異的に促進する因子としてアクチビン(Activin)^{1,2)}が、逆に抑制する因子としてインヒビン(Inhibin)^{3,4)}とフォリスタチン(Follistatin)⁵⁾が次々に哺乳動物の卵巣や精巣から単離された(図1)。アクチビンとインヒビンはいずれもTGF- β スーパーファミリーに属する因子である(図2)。インヒビンの受容体⁶⁾は未だ明らかにされていないのに対し、アクチビンの細胞内情報伝達機構は、最近の研究によりその主要な部分が解明され、他のTGF- β ファミリーの因子、例えばTGF- β やBMPなどと基本的には多くが共通していることが判明した^{6,7)}。一方、フォリスタチンはインヒ

ビンやアクチビンと異なり一本鎖の糖タンパク質であり、その後の研究によりアクチビン結合タンパク質であることが明らかにされ、アクチビンの作用調節因子としての作用が注目を集めている⁸⁾。ここでは、アクチビン作用の多様性とフォリスタチンによるその制御機構をまとめた。

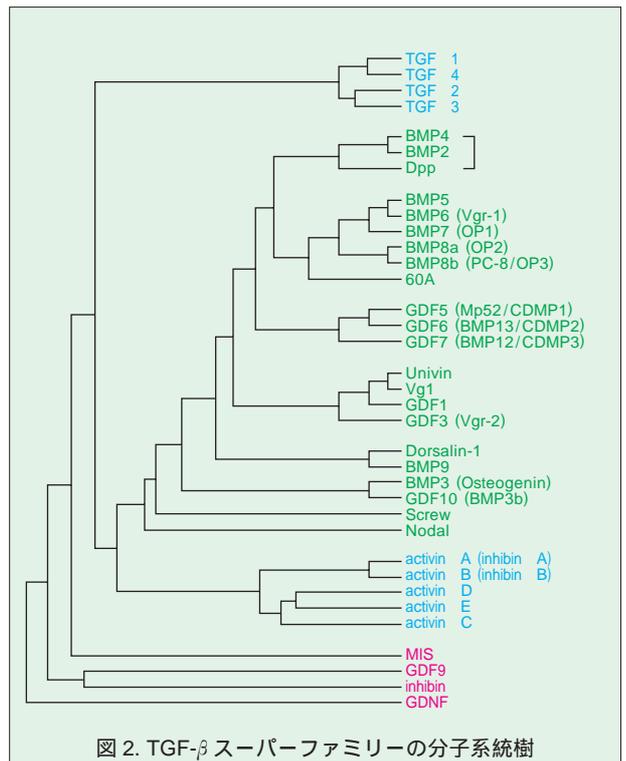
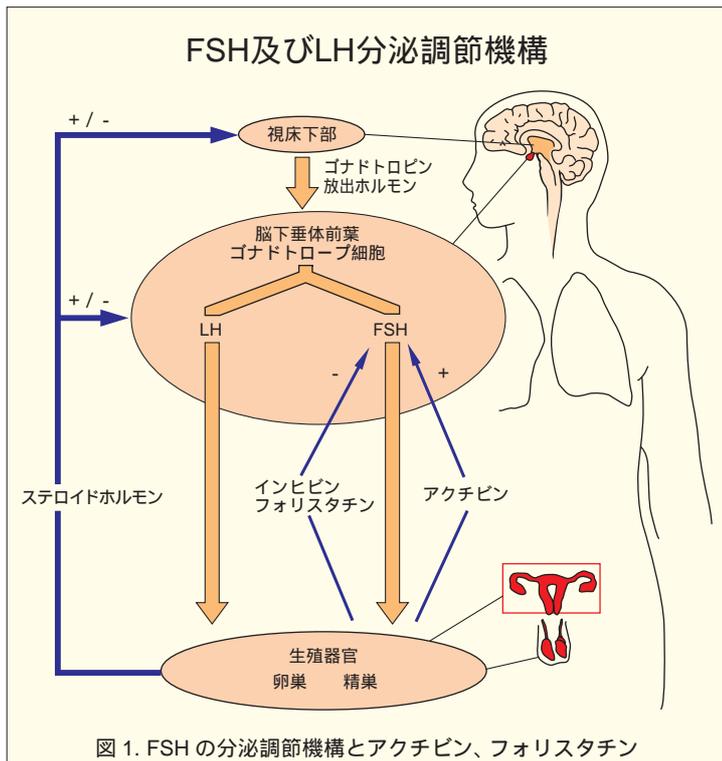
2. アクチビンの分子構造

インヒビンは独立した2種類の遺伝子にコードされている α サブユニットと β サブユニットの前駆体タンパク質として翻訳された後、S-S結合を介して二量体を形成し、プロセシングを受け成熟型インヒビン($\alpha\beta$ ダイマー、32kD)に変換される。アクチビンは β サブユニットの二量体であり、インヒビンと同様なプロセシングを受けて24kDの成熟型が生成する(図3)。 β サブユニットにはA、B、C、Eの4種

類が存在するので、その組み合わせにより多様なアイソフォームが存在することになる。これまでに、図3に示す分子種が自然界から単離されている。いずれにしても、サブユニットの組み合わせを変化させることにより、全く正反対の作用を発現するという巧妙な調節機構は広く関心を集めている^{9,10)}。

3. アクチビン作用の多様性^{9, 10, 11, 12)}

インヒビンはいろいろな場面でアクチビンに対して拮抗的に働くが、その活性は弱くこれまでにFSHの分泌抑制作用以外には目立った作用は見いだされていない。これとは逆に、アクチビンはその後の研究により実に様々な作用を持つことが明らかにされている。アクチビンはそもそも培養下垂体細胞からのFSH分泌を促進する活性を持つ因子として発見された。事実、アクチビンは下垂体前葉のFSH産生



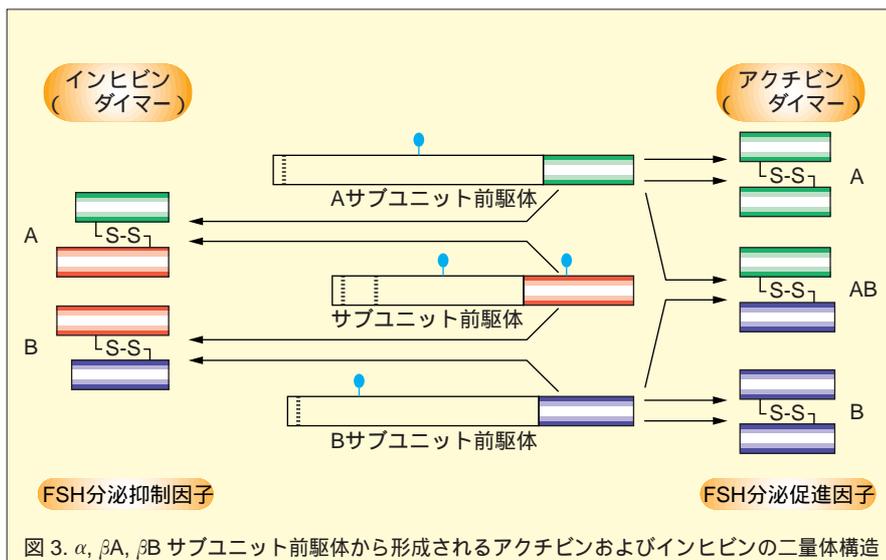


図3. α , β A, β B サブユニット前駆体から形成されるアクチピンおよびインヒピンの二量体構造

細胞の数を増加させることやFSH mRNAの安定性を高める。興味深いことに、アクチピンの数多くのアイソフォームの中でアクチピンBが下垂体で産生されオートクライン因子として働きFSH分泌を高めているという。逆に、成長ホルモン、プロラクチン、コルチコトロピンなどの他の下垂体ホルモンの分泌はアクチピンにより抑制されると報告されている。一方、アクチピンの産生量が最も高いと考えられる卵巣や精巣では、卵巣顆粒膜細胞の分化促進、卵胞の退行誘導、初期卵胞の成熟促進、アントラルの黄体化抑制、精子形成促進などの多くの重要な役割を果たしている。こうした、主として生殖に関わるホルモン様の作用以外に多彩なアクチピンの作用が注目される契機となったのは、前赤芽球系細胞に対する分化誘導能が発見されてからである。アクチピンの投与によりBFU-EやCFU-Eの総数が増加すること、エリスロポエチンの共存下で赤血球産生を促進することなどが観察されている¹³⁾。また、B細胞ハイブリドーマにおいて、アクチピンはp21^{CIP/WAF1}を誘導することによりG1アレスタをもたらす¹⁴⁾。IL-6やIL-11と拮抗して形質細胞腫の増殖を抑制することも知られている。

アフリカツメガエル初期胚における

中胚葉誘導作用は特に多大の関心を集めた。ツメガエル初期胚の予定外胚葉片を各種濃度のアクチピン溶液中で培養すると濃度に依存して血液細胞、筋肉、脊索などの腹側から背側にいたる各種中胚葉系の組織が誘導されることが明らかにされている¹⁵⁾。さらに、ツメガエル初期発生においてアクチピンのシグナルを遮断すると神経誘導が起こるとする報告もある。一方、ラット肝再生系でのアクチピンの作用が最近注目されている。アクチピンAをラット静脈内に投与すると、肝臓のDNA合成が抑制された上、アポトーシスが誘導され、その結果、有意に肝細胞数が減少するという。また、ラット正常肝ではわずかなアクチピン β A mRNAの発現が認められているが、70%肝切除手術を施すと急激にそれが上昇する。逆に、肝臓に特異的に発現しているアクチピン β C及び β EのmRNAはいずれも肝切除により減少する。ところが、肝切除直後にフォリスタチンを投与すると肝再生が顕著に促進されることが観察されている。恐らく肝形成ならびに肝機能の制御にTGF- β やHGFとともに、アクチピン及びその結合タンパク質であるフォリスタチンが重要な機能を担っているものと思われる¹⁶⁾。

脳・神経系での働きに注目すべき

データが蓄積されつつある。これまでに、ある種の神経細胞の生存維持、毛様体神経節細胞の分化誘導などの作用が報告されていた。ところが、最近になって、ラットへのカイニン酸の投与によっててんかんを誘導すると海馬に β A mRNAが一過性に高まる。また、海馬に電気刺激を加え長期記憶を惹起すると、同様に β A mRNAの発現が海馬に認められている。さらにハンチントン病や脳虚血のモデル動物にアクチピンAを脳室内投与すると有意に病状が改善されるとする報告もある。一方で、筆者らは最近、アクチピンII型受容体と相互作用する分子ARIP1を見いだした¹⁷⁾。ARIP1はWWドメインやPDZドメインといったタンパク質相互作用に必要なドメインを複数個有する高分子の細胞内タンパク質であり、興味深いことに、脳に特異的に高い発現が認められる。特に神経シナプスでアクチピン受容体及びアクチピンの細胞内シグナル伝達分子であるSmad2/3と複合体を形成して存在していることも観察している。さらにARIP1はグルタミン酸受容体をはじめシナプスに存在する各種イオンチャンネルとも相互作用することが明らかにされている。このような結果は、アクチピンとその細胞内シグナル伝達系が神経回路網形成に深く関わりを持っていることを示唆している

アクチピンはランゲルハンス島細胞からのインスリンの分泌を促進する。また、ラット頭頂骨由来細胞の増殖を促進することやプロリンのコラーゲンへの取り込みを促進することなどからBMPとともに骨の形成に関与していると考えられる。

4. フォリスタチンによるアクチピン作用の制御^{12, 18)}

アクチピンのシグナルは2種類のアクチピン受容体I型及びII型を介して細胞内へ伝えられる。いずれもセリン/

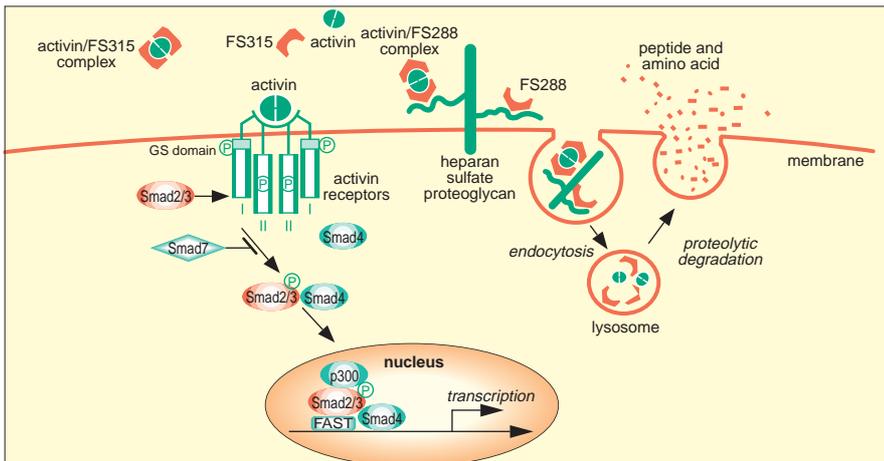


図4. フォリスタチンによるアクチビン作用の阻害様式
 フォリスタチンがアクチビンと複合体を形成するとアクチビンは受容体との結合能を失い、そのシグナル伝達は遮断される。さらにアクチビン/フォリスタチン複合体は細胞表面へパラン硫酸に結合した後、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ、分解・代謝される。

スレオニンキナーゼ型受容体である。アクチビンが恒常的にリン酸化されたII型受容体に結合した後、この複合体とI型受容体が会合し膜上で四量体を形成する。そのことによりI型受容体の膜直下のGS領域がリン酸化される。このリン酸化により細胞内情報伝達分子であるSmadのリン酸化カスケードが惹起され、アクチビンのシグナルが核まで伝達されることになる。Smad分子群の中にはシグナル伝達に対して抑制的に働くものもある。こうしたアクチビンのシグナル伝達系をフォリスタチンは細胞の外で遮断することにより、アクチビンの多彩な作用を阻害する(図4)。

フォリスタチンにはRNAスプライシングによって翻訳されるタンパク質領域の長さの違いから2種類の分子種、FS-315とFS-288(それぞれ、315残基と288残基のアミノ酸から成る)が存在する。FS-315はC末端に酸性に富む領域を持っているが、FS-288がその領域を欠く。それ以外は両者の構造は同一である。興味深いことに、最近、FS-288の方がFS-315に比べアクチビンと約10倍ほど強く結合し、より強くアクチビン活性を抑制することが判明した。これは、FS-288の静脈内投与が脳下垂体からのFSHの分泌

をより強く抑制するin vivoの実験結果とよく符合している。さらに、フォリスタチンの重要な性質として、細胞表面へのヘパラン硫酸糖鎖への親和性が挙げられる¹⁹⁾。C末端の酸性に富んだ領域を欠くFS-288はある特定のヘパラン硫酸の構造を認識して高い親和性を示したのに対し、FS-315はほとんど結合能を示さない²⁰⁾。こうしたフォリスタチンの分子種の性質の違いは、C末領域に存在するアスパラギン酸やグルタミン酸などの酸性アミノ酸を多く含有するクラスターの有無によるものと考えられる。

このようなフォリスタチン分子種の構造上の違いは、アクチビンの阻害様式の違いとしても観察される。フォリスタチンはアクチビンと結合し、アクチビン分子の受容体への結合領域をマスクすることによりII型受容体への結合を阻害する。この際、FS-315に比べFS-288の方がアクチビンと強く結合するために、より効率的にアクチビンのII型受容体への結合を阻害する。その結果、アクチビンのII型受容体への結合によって惹起される細胞内リン酸化カスケード応答反応が、FS-288によりより効果的に抑制されるものと考えられる。

フォリスタチン分子の中でもFS-

288はアクチビンと複合体を形成したままでも強く細胞表面へパラン硫酸に結合しうる。つまり、アクチビンはFS-288を介して細胞表面にとどまる。その後、エンドサイトーシスにより、アクチビン/FS-288受容体は細胞内に取り込まれて、リソソーム内でタンパク分解を受けて最終的に細胞外へ放出される²¹⁾。

このように、フォリスタチンはアクチビンと複合体を形成することによりアクチビンとその複合体との相互作用を阻害しアクチビンの細胞内へのシグナル伝達を遮断する。一方、細胞表面からアクチビンの細胞内へのエンドサイトーシスによって取り込みを促進し分解してしまふ(図4)。こうしたアクチビン調節作用がフォリスタチン分子種により異なることは注目すべき点である。

5. おわりに

アクチビンの多彩な作用発現に対して、その調節因子であるフォリスタチンもやはり多様な分子種を準備して厳密にアクチビンの働きを監視する機構が必要であるものと考えられる。

アクチビンは貧血症や骨粗鬆症への治療応用が考えられている。最近、ハンチントン病に有効であるとの報告もある。他方、フォリスタチンは慢性肝炎、慢性腎炎、進行性固型癌などの患者で高値を示すことが認められている。しかしながら、疾病とのかかわりについてはほとんど明らかにされておらず、今後の臨床面での研究の展開が待たれる。

[参考文献]

- 1) Vale, W. *et al.* : Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature* 321, 776-779 (1986)
- 2) Ling, N. *et al.* : Pituitary FSH is released by a heterodimer of the β -subunits from the two forms of

- inhibin. *Nature* 321, 779-782 (1986)
- 3) Miyamoto, K. *et al.* : Isolation of porcine follicular fluid inhibin of 32K daltons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 129, 396-403 (1985)
- 4) Robertson, D. M. *et al.* : Isolation of inhibin from bovine follicular fluid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 126, 220-226 (1985)
- 5) Ueno, N. *et al.* : Isolation and partial characterization of follistatin : A signal-chain Mr 35,000 monomeric protein that inhibits the release of follicle-stimulating hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84, 8282-8286 (1987)
- 6) Mathews, L. S. *et al.* : Activin receptors and cellular signaling by the receptor serine kinase family. *Endocr. Rev.* 15, 310-325 (1994)
- 7) Heldin, C. H. *et al.* : TGF- β signaling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 390, 465-471 (1997)
- 8) Nakamura, T. *et al.* : Activin-binding protein from rat ovary is follistatin. *Science* 247, 836-838 (1990)
- 9) 杉野弘, 中村隆範 : 多様な生理作用と情報伝達機構. *生化学* 68, 1405-1428 (1996)
- 10) Mather, J. P. *et al.* : Paracrine regulation of reproductive function by inhibin and activin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 201, 1-15 (1992)
- 11) De Paolo, L. V. *et al.* : Follistatin and activin : A potential intrinsic regulatory system within diverse tissues. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 198, 500-512 (1991)
- 12) Aono, T. *et al.* : Inhibin, activin and follistatin : regulatory functions in system and cell biology. *Springer, New York* (1996)
- 13) Shiozaki, M. *et al.* : Evidence for the participation of endogenous activin A/erythroid differentiation factor in the regulation of erythropoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, 1553-1556 (1992)
- 14) Yamato, K. *et al.* : Activin A induction of cell-cycle arrest involves modulation of cyclin D2 and p21^{CIP/WAF1} in plasmacytic cells. *Mol. Endocrinol.* 11, 1044-1052 (1997)
- 15) Asashima, M. *et al.* : Presence of activin (erythroid differentiation factor) in unfertilized eggs and blastulae of *Xenopus laevis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88, 6511-6514 (1991)
- 16) 安田宏 : 肝再生の停止機構とアクチビン・フォリスタチン系. *医学のあゆみ* 185, 177-180 (1998)
- 17) Shoji, H. *et al.* : Identification and characterization of a PDZ protein that interacts with activin type II receptors. *J. Biol. Chem.* 275, 5485-5492 (2000)
- 18) Sugino, H. *et al.* : Follistatin and its role as an activin-binding protein. *J. Med. Invest.* 44, 1-14 (1997)
- 19) Nakamura, T. *et al.* : Follistatin, an activin-binding protein, associates with heparan sulfate chains of proteoglycans on follicular granulosa cells. *J. Biol. Chem.* 266, 19432-19437 (1991)
- 20) Sugino, K. *et al.* : Molecular heterogeneity of follistatin, an activin-binding protein: Higher affinity of the carboxyl-terminal truncated forms for heparan sulfate proteoglycans on the ovarian granulosa cell. *J. Biol. Chem.* 268, 15579-15587 (1993)
- 21) Hashimoto, O. *et al.* : A novel role of follistatin, an activin-binding protein, in the inhibition of activin action in rat pituitary cells : Endocytotic degradation of activin and its acceleration by follistatin associated with cell-surface heparan sulfate. *J. Biol. Chem.* 272, 13835-13842 (1997)
-) 本稿脱稿後、Lewis, K. A. らにより、III型 TGF- β 受容体である β -グリカンが、II型アクチビン受容体とともに働くインヒビン受容体機能をもつことを明らかにした (*Nature* 404, 411-414 (2000))

TGF- スーパーファミリー アクチビン、ホリスタチン

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

アルツハイマー病研究用

Tau Protein, Human, recombinant, Solution

生化学用

チューブリン重合促進因子として単離された Tau は、微小管の安定性を担っていると考えられており、現在では中枢神経軸索のみならず多くのニューロン、グリアに発現していることが知られてきました。アルツハイマー病では Tau の過剰リン酸化による神経原線維変化の形成によりニューロンの変性が起こると判明しています。アルツハイマー病の他、ダウン症、パーキン

ソン病などの神経変性疾患においても、Tau が発症に関与していると報告があり、神経病変の研究に有用なツールとなります。

起 源 : Human tau-441 (N-terminal histidine tagged) cDNA expressed in *E. coli*

形 状 : 100mmol/l 塩化ナトリウム、1mmol/l EDTA、5mmol/l DTT、1mmol/l PMSFを含む

50mmol/l MOPS 溶液、pH 6.8

濃 度 : 2mg/ml

分子量 : 65,000

[参考文献]

1) Goedert, M. : *Trends Neurosci.*, 16, 460 (1993)

2) Lu, Q. and Wood, J.G. : *J. Neurosci.*, 13, 508 (1993)

542-01011 50 μ g 25,000 円

合成ペプチドを使った培養細胞へのトランスフェクション法

長崎大学 工学部 応用化学科 新留 琢郎

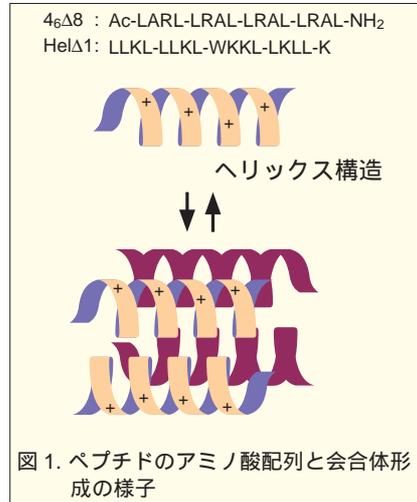
1. はじめに

急速な勢いで増加しつつある各生物種の全ゲノム配列情報は、生命システムの全体像を明らかにするための出発点である。しかしながら、遺伝情報はあくまで生命システムを構成する部品の構造であり、その情報のみで生命システムを十分に語ることは出来ない。したがって、ゲノム解析からポスト・ゲノム解析へ向かう重要なステップとして、遺伝子間相互作用やタンパク質間相互作用を、系統的に明らかにしていくことが必要である。その手段として、未知遺伝子を細胞内へトランスフェクションし、その遺伝子産物の機能を評価する方法や対象遺伝子のアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた発現制御が挙げられる。しかし、現在、市販されている細胞内核酸導入試薬はその処方が複雑で、高価なものも多いため、数多くの未知遺伝子のスクリーニングには膨大な労力と費用がかかることが予想される。そこで、より簡便で安価、そして、高効率な細胞内への核酸キャリアー(運搬体)が必要となることは言うまでもない。また、この細胞内へ核酸を導入する技術は、現在注目されている遺伝子治療をより現実的なものとするための重要な鍵ともなっている。

このような背景の中、筆者は比較的合成が容易で、かつ、安定性の高い合成ペプチドを細胞内への遺伝子キャリアーとして利用可能であることを見いだした^{1,2)}。ここではその利用方法と導入機構、さらに、導入能促進の手法等について紹介したい。

2. DNA との凝集体形成について

筆者の推奨しているペプチドは塩基



性アミノ酸と疎水性アミノ酸から構成される、16あるいは17残基の両親媒性 α -ヘリックスペプチド、4₆、8、Hel1である(図1)³⁾。自動合成機とちょっとしたペプチド合成に関する知識があれば、百ミリグラム程度(24穴シャーレでおよそ1万穴分)のペプチドを十万円以下で合成できる。これらのペプチドは水溶液中で α -ヘリックス構造を形成し、数分子からなる会合体の状態で存在していることが考えられている。したがって、この会合体が一種のポリカチオンのような状態になり、核酸(プラスミドDNA等)と凝集体を形成する。この凝集体が細胞の中へ取り込まれるわけである。

プラスミドDNAとの凝集体形成はペプチドとの電荷比(ペプチドのカチオン/DNAのリン酸基)1.0以上において認められ、電荷比2.0では数百から数千nm程度の凝集体を形成する。また、凝集体形成にはペプチド中のカチオンだけでなく、疎水性アミノ酸も重要な働きをしていることが明らかになっている。実際、20残基のポリリジ

ンではあまり遺伝子導入効率は高くないことから、20残基弱の短いペプチドで遺伝子キャリアーとなりうる理由は、この疎水性アミノ酸の効果であると考えられる。

3. プラスミドDNAとの複合体形成とトランスフェクション

実際のトランスフェクションの手法について筆者のプロトコルを図2に紹介する。ペプチド中には不安定なアミノ酸は存在していないので、水溶液として冷蔵保存すれば数年は安定に保存できる点で一般に市販されている脂質系のトランスフェクション試薬より、取り扱いが容易なのではないかと思う。そのペプチド溶液とプラスミドDNA溶液を培地中(血清無し)に電荷比2.0で混合し、細胞に添加するだけである。トランスフェクションの時間は3時間で行っている。また、このときの細胞毒性を評価した結果、80%以上の細胞生存率を認めた。しかし、これらペプチド自身にリン脂質膜破壊能があることから、電荷比を4以上に上げると、細胞毒性が現れてしまうので注意が必要である。

さて、そのトランジェントなトランスフェクション効率をプラスミドDNA上にコードされているルシフェラーゼの

24穴シャーレ1穴分

- 2.5 μ gプラスミドDNA/250 μ l血清無し培地
- ペプチド水溶液(1.6mM(正電荷濃度)10 μ l)
- すばやく混合して、15分程度静置
- 細胞(前日に 1×10^5 個まいたもの)に添加
- 「あらかじめ培地を十分吸い出しておく」
- 3時間インキュベーション
- 1mlの血清入り培地を添加
- 12時間インキュベーション
- 新しい血清入り培地に交換し、さらに24時間培養
- 発現確認

図2. トランスフェクションプロトコル

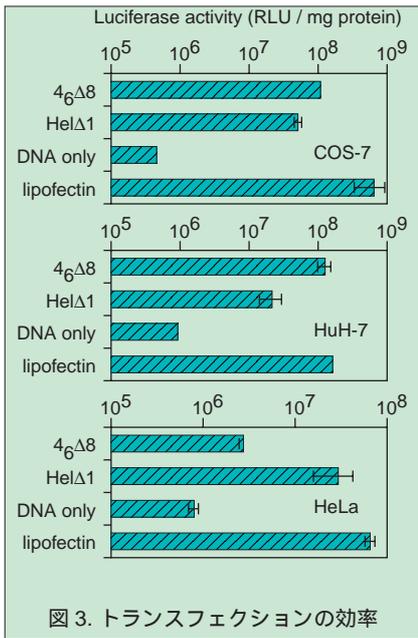


図3. トランスフェクションの効率

発現を指標にして解析した結果を図3に示す。各ペプチドの遺伝子導入効率はリポフェクチン(GIBCO BRL)と比較して同等かあるいは10倍程度下回っていた。大量発現の必要がある以外においては十分使用に耐えるものと考えられる。

では、どのような経路でペプチド-DNA凝集体は細胞内へ取り込まれているのか。まず、クロロキン(エンドソーム内の酸性化を押さえ、DNAの分解を抑制し、また、リソソーム膜を不安定化させる)をトランスフェクション時に共存させた結果、10倍程度の発現効率向上が認められた。また、1)

サイトカラシンB(マクロピノサイトーシスの阻害剤)の添加により発現効率は低下し、2)クロロプロマジン(クラスリン依存性のエンドサイトーシス阻害剤)で影響されず、3)N-エチルマレイミド(エンドソームへの輸送を阻害)添加で低下し、4)ノコダゾール(初期エンドソームから後期エンドソームへの輸送を阻害)添加で効率が促進されたこと等から、ペプチド-DNA凝集体はレセプター非依存的なマクロピノサイトーシス経路で細胞内に取り込まれ、その一部が初期エンドソームより細胞質へ移行していることが示唆された(図4)。細胞質への移行に関しては、前に少し触れたがペプチド自身の持つ膜破壊能が関与していることが指摘されている。その根拠として、似たような凝集体を形成するペプチドであれば、細胞内へは取り込まれるが、そのペプチドの膜破壊能が低ければ十分な遺伝子発現が認められないことがわかっていて、また、核への移行についてはどのようにおこなわれているのか、現時点ではわかっていない。

4. 導入効率上昇への試み

4-1. 細胞質への積極的な移行

前項でペプチド-DNA凝集体はマクロピノサイトーシス様経路で細胞内に取り込まれていることから、多くの分子

が分解への運命をたどっていることが考えられる。そこで、エンドソームから細胞質への移行をもっと積極的に行わせることを試みた。筆者はある酸性ペプチド(Ac-(Leu-Ala-Glu-Leu)₃-NH₃)の添加剤としての利用に着目した。このペプチドは分子内に3個の酸性アミノ酸を含み、弱酸性条件下で、α-ヘリックス構造を形成し、リン脂質膜破壊能を獲得する。そこで、前述の塩基性ペプチド-DNA凝集体に、この酸性ペプチドをさらに加え、塩基性ペプチド-DNA-酸性ペプチドの3者の凝集体を形成させた。シナリオとして、この3者の凝集体が細胞内へ取り込まれ、エンドソームへ達すると、そこは弱酸性の環境となり、酸性ペプチドの膜破壊能がオンとなることを期待した。実際にトランスフェクション効率を解析した結果、予想通り、酸性ペプチドの添加量に従って、発現効率が上昇することがわかった(図5)。また、その際の細胞毒性は認められていない。

4-2. レセプターを介した積極的な細胞内への取り込み

次にペプチド-DNA凝集体を細胞表面のレセプターに認識させることによるトランスフェクション効率の向上を試みた。ペプチドを特定のリガンドで修飾するわけだが、そのリガンドを選択することにより細胞特異的な遺伝子

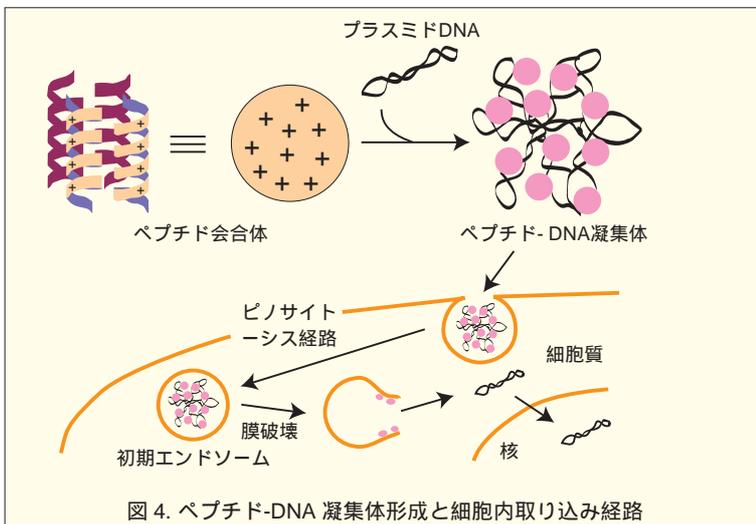


図4. ペプチド-DNA凝集体形成と細胞内取り込み経路

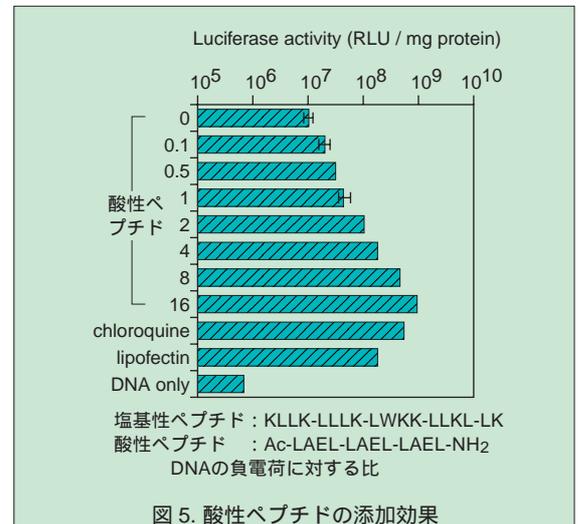


図5. 酸性ペプチドの添加効果

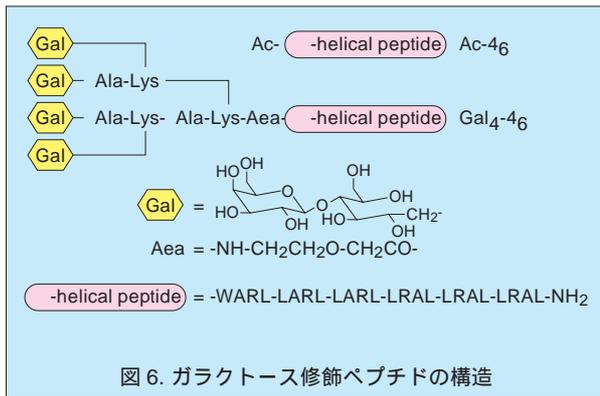


図 6. ガラクトース修飾ペプチドの構造

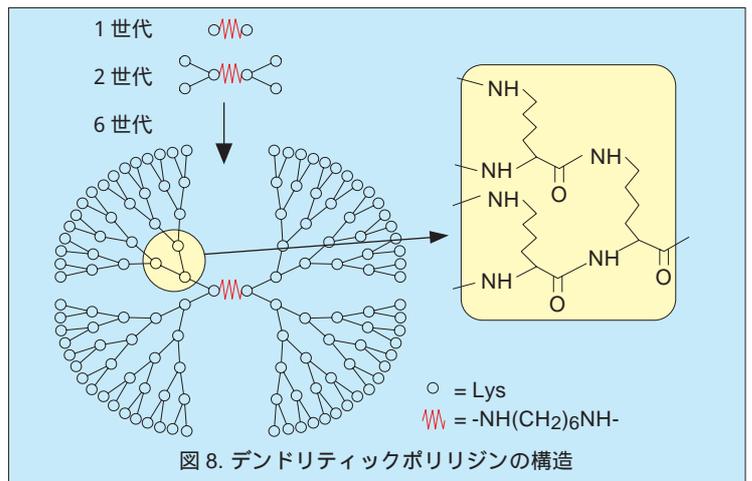


図 8. デンドリティックポリリジンの構造

導入を可能にし、また、特定の細胞専用の高効率トランスフェクション試薬というものも出来るかもしれない。一方で、この技術は遺伝子治療へ応用していくためのジーンターゲットングの手法にも関連し、重要課題である。

その一例として筆者は肝細胞をターゲットとして上記塩基性ペプチドをガラクトース修飾した(図6)。肝細胞表面には糖鎖末端のガラクトースを認識し、エンドサイトーシスを誘起するアジアログリコプロテインレセプターの存在が知られている。このレセプターは枝分かれ状の糖鎖を認識することが報告されているので、一つのペプチド鎖に対して4つのガラクトースで修飾したペプチドを合成した。ヒト肝がん由来培養細胞(HuH-7)に対してトランスフェクション効率を評価した結果、コントロールのペプチド(Ac-4₆)と比較して、400倍程度の向上が認められた(図7)。さらに、トランスフェクションの際にアジアロフェチイン(アジアログリコプロテインレセプターのリガンド)添加で阻害を受けること、そして、クロロプロマジン処理することで発現効率は低下し、サイトカラ

シンB処理では影響を

受けなかったこと等より、このガラクトース修飾ペプチド-DNA凝集体はターゲットとしたレセプターを介したクラスリン依存的エンドサイトーシス経路で細胞内に取り込まれていることが示された。

5. その他のトランスフェクション試薬開発

ここまで、塩基性 α -ヘリックスペプチドという直鎖状のペプチドを用いたトランスフェクション法について紹介してきたが、最近、興味深い遺伝子キャリアー分子を見いだしたので紹介する。それは、ヘキサメチレンジアミンをコアとして、塩基性アミノ酸であるリジンが放射状に伸びているデンドリティックポリリジンという分子である(図8)。このような対称性を持つ枝状分子をデンドリマーと呼ぶが、直鎖状のポリマーと比較してその物性は大きく異なり機能性材料としての利用も興味深い⁴⁾。実は、既に「ポリアミドアミンデンドリマー」が高性能遺伝子キャリアーとしてQIAGENから市販されているが⁵⁾、一定の熱分解処理しているため単一組成の分子ではなく、将来行われるであろうリガンド修飾等といった精密な分子設計に障害が生じるおそれがある。そこで、筆者は主鎖と側鎖にアミノ基を二つ有するリジンに着目し、単一分子組成でかつ高効率なトラン

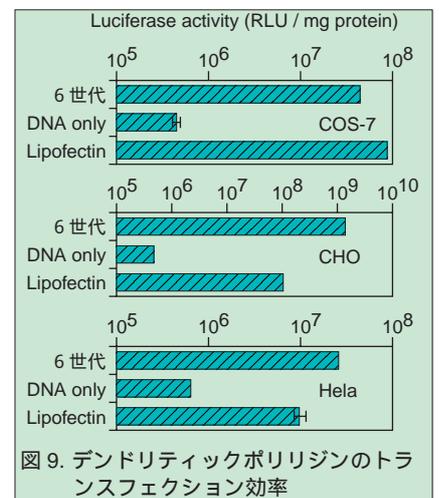


図 9. デンドリティックポリリジンのトランスフェクション効率

スフェクション能を持つデンドリマー分子を作成した。そして、数種の培養細胞に対して評価した結果、いずれの細胞でも十分なトランスフェクション効率を示した(図9)。さらに、トランスフェクション時において、血清10%存在させても発現効率の低下は少ないことがわかった。血清を抜けない培養細胞への利用に適しているだろう。現在、筆者はこの分子にリガンド修飾等を施し、さらなる効率向上を試みている。さらに、マウスを対象に*in vivo*での有効性の評価を進めている。

6. おわりに

遺伝子治療への応用を目指して、数多くの細胞内への遺伝子導入法が提案されている。現在、遺伝子治療の主流はウイルスを遺伝子キャリアーと

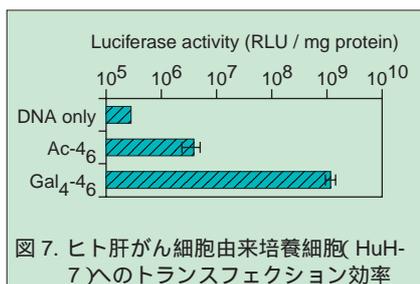


図 7. ヒト肝がん細胞由来培養細胞(HuH-7)へのトランスフェクション効率

して用いた方法で、純粋な化学的手法はその簡便性と安全性に優れているにもかかわらず導入効率の悪さから応用例は少ない。その理由として、キャリアー分子と血清との非特異的な相互作用や、導入遺伝子の体内動態制御の難しさ、また、細胞内での核までの移行およびその後の転写制御がウイルスに比べれば解決されていない点が多いといったことが挙げられるだろう。結局、遺伝子治療への応用という観点から言えば暗中模索の状況

が続いているが、しかし、その多くの研究の中から培養細胞への遺伝子導入用の一般試薬として採用されたものは多い。今後、さらに詳細な導入機構や凝集体の物性研究が進み、また、新たなアイデアを取り入れることにより、これまでにない高効率かつ簡便なトランスフェクション試薬が現れるだろう。そして、近い将来、遺伝子導入技術の発展とともにゲノムの機能解明が進み、また一方で、遺伝子治療が効果的な治療法として確立されることを期待し

たい。

〔参考文献〕

- 1) T. Niidome et al., *J. Biol. Chem.*, 272, 15307-15312 (1997)
- 2) N. Ohmori et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 245, 259-265 (1998)
- 3) T. Niidome et al., *Bioconjugate Chem.*, 10, 773-780 (1999)
- 4) 丸尾直樹、西野憲和、高分子論文集, 54, 731-737 (1997)
- 5) M. X. Tang et al., *Bioconjugate Chem.*, 7, 703-714 (1996)

ペプチドを用いた安価な新規遺伝子導入試薬

Transome™ , Peptide Type

遺伝子研究用

11 残基の疎水性アミノ酸と 6 残基の塩基性アミノ酸からなる新規のペプチド性遺伝子導入試薬です。このペプチドが α -ヘリックス構造をとり、これが会合体を形成し一種のポリカチオン状態になり、DNA との複合体を形成、エンドサイトーシスにより細胞内に取込まれます。

〔特長〕 安価
非常に安定
細胞毒性が低い

〔ペプチド構造〕

LLKLLKLLWKKLLKLLK・6TFA (MW=2788.86)

〔参考文献〕

- 1) Ohmori, N., Niidome, T., Kiyota, T., Lee, S., Sugihara, G., Wada, A., Hirayama, T. and Aoyagi, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 245, 259 (1998)
- 2) Niidome, T., Takaji, K., Urakawa, M., Ohmori, N., Wada, A., Hirayama, T. and Aoyagi, H. : *Bioconjug. Chem.*, 10, 773 (1999)

209-15101 1ml(100 回用 : 24 穴シャーレ) 近日発売

〔関連商品〕

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
074-03621	Genetransfer®	1ml	21,000
070-04441	Genetransfer® Iyo	5 × 0.2ml	29,000
202-14091	Transome™	1ml	30,000
546-01271	Transome™ Type	1ml	近日発売
543-01281	Transome™ Type	1ml	近日発売

マウス胎児より抽出した RNA から調製した cDNA

Embryotic, Mouse, cDNA

遺伝子研究用

本品は、各受胎後のマウス胎児の Total RNA から Oligo(dT) primer を用いて合成した 1st strand cDNA です。

由来 : 受胎した CD1 outbred mice の胎児より調製

調製方法 : Guanidium isothiocyanate / acid phenol 法で抽出した Total RNA 10 μ g を、Oligo(dT₁₈) primer を用い、42℃ で AMV 由来の逆転写酵素により 1st strand cDNA を合成し、RNase H で処理。反応に用いた酵素は熱処理により不活化。

濃度 : 0.5 ~ 2ng/ μ l
純度 : マウス GAPDH に特異的な primer を用いた PCR で、963bp 断片の増幅により確認

形状 : 25mmol/l Tris-HCl (pH 8.3), 50mmol/l KCl, 2mmol/l DTT, 5mmol/l MgCl₂

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
544-01191	Embryotic, Whole Mouse, cDNA (9.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
546-01151	Embryotic, Whole Mouse, cDNA (10.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
543-01161	Embryotic, Whole Mouse, cDNA (12.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
540-01171	Embryotic, Whole Mouse, cDNA (14.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
547-01181	Embryotic, Whole Mouse, cDNA (16.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
544-01211	Embryotic, Mouse Brain, cDNA (11.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
542-01251	Embryotic, Mouse Lung, cDNA (12.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
545-01241	Embryotic, Mouse Liver, cDNA (13.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
547-01201	Embryotic, Mouse Blood, cDNA (17.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
548-01231	Embryotic, Mouse Kidney, cDNA (13.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
541-01221	Embryotic, Mouse Heart, cDNA (12.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000
549-01261	Embryotic, Mouse Muscle, cDNA (13.5 day)	1vial (40 μ l)	60,000

パラフィン包埋切片から、わずか 15 ~ 20 分で DNA 抽出が可能!

DNA Isolator PS-Rapid reagent

遺伝子研究用

DNA アイソレーター PS-ラピッド試液は、プロテアーゼ処理やアルコール沈殿等を行うことなく、特殊な界面活性剤を使用することにより組織切片の煮沸と遠心分離だけの簡略化した方法で、短時間でPCRに適用できるDNAの分離が可能です。

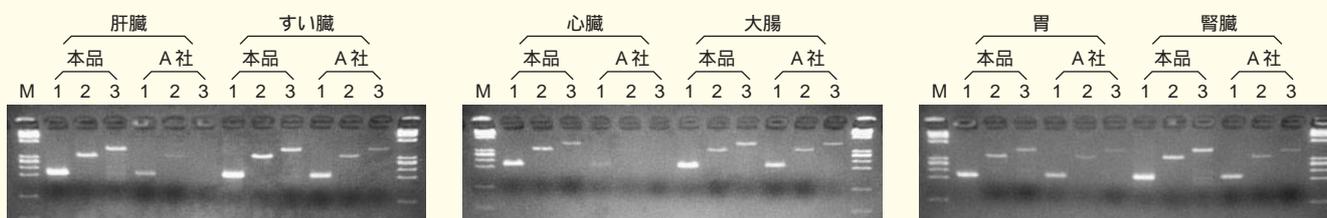
〔特長〕

- 15 ~ 20 分で DNA 抽出が可能
- 脱パラフィン処理やタンパク質分解処理が不要です。
- 遠心ろ過で DNA を回収することができるので、操作が簡単
- PCR 阻害剤の混入を極力抑え数百 bp の DNA 増幅反応に有効です。

〔内容〕

DNA Isolation Solution 10ml × 5 本

〔使用例〕



各組織のパラフィン包埋切片より分離した DNA を鋳型とした α -グロビン遺伝子の増幅

Lane1: α -グロビン(205bp) Lane2: α -グロビン(325bp) Lane3: α -グロビン(408bp)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-56401	DNA Isolator PS-Rapid reagent	遺伝子研究用	100 回用	14,000

〔関連商品〕

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
369-26101	0.2 μ m 遠心ろ過チューブ(セントリザルト C4)	25 個	5,500

新規エキソヌクラーゼ

Exonuclease, recombinant

遺伝子研究用

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

起 源 : *Escherichia coli* より単離したエキソヌクラーゼ遺伝子をプラスミドに組み

込み *Escherichia coli* JM 109 中で発現。

比 活 性 : 2,000units/mg 以上
 活性の定義 : 熱変性 DNA から下記反応条件にて 37 °C、30 分間に、1mmol の酸可溶性核酸を遊離させる酵素量を 1unit とする。

形 状 : 50mmol/l Tris-HCl, 1mmol/l DTT, 1mmol/l Na₂EDTA, 250mmol/l NaCl, 50% グリセロール, (pH 7.6)

〔貯法〕 - 20 °C 保存

〔参考文献〕

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

546-00931 5,000 units 23,000 円

フレキシブルリンカーより GFP、BFP 融合タンパク質発現が増したレポーターアッセイ用蛍光タンパク質発現ベクター

GFP pQBI 25-fA

BFP pQBI 50-fC

オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) 由来の野生型蛍光タンパク質 GFP の遺伝子配列を改変して作ったもので、細胞内におけるタンパク質の発現や局在を経時的、かつ可視的に検出できるレポーターとして有用です。

本品は、フレキシブルリンカー を含み GFP・BFP 融合タンパク質を発現しやすくしたベクターです。

: Gly × 5 の配列から成るリンカーで、短いペプチドをコードする配列のクローニングを可能にします。リンカーの存在により GFP 融合タンパク質が発現しやすくなります。

調製 : それぞれの pQBI 25-fA, 50-fC を保持した *E. coli* より、CsCl-EtBr 密度勾配遠心法により分離、精製。

純度 : OD₂₆₀/OD₂₈₀ = 1.7 ~ 1.9

波長 : **GFP** Ex. 474 nm Em. 509 nm

(フィルター : Excitation filter 530/30nm Emission filter 485/20 nm)

BFP Ex. 386 nm Em. 450 nm

(フィルター : Excitation filter 460/40nm Emission filter 360/40 nm)

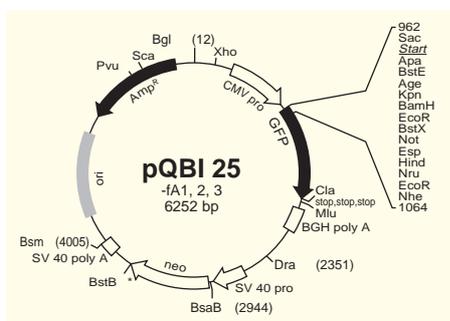
形状 : 10mmol/l Tris-HCl, 1.0 mmol/l EDTA (pH 8.0)

貯法 : -20

GFP pQBI 25-fA1, -fA2, -fA3

クローニングされたタンパク質遺伝子を C 末端で GFP 融合タンパク質として生成させるためにデザインされています。'Kozak-optimized' ATG 開始コドン、下流にマルチクローニングサイト、GFP シーケンスの順で配置しています。マルチクローニングサイト中にフレキシブルリンカーを含みます。

(pQBI 25-fA1,-fA2,-fA3 のクローニングサイト)



-fA1

SacII optimized ATG ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI Flexible Linker NheI
 ... CCG CGG GGC ACC ATG GGG GGC CGG TTA CCG GTA CCG GAT CCA GAT ATC TGG GCG GCC GCT CAG CAA GCT TCG CGA ATT CCG GGA GGC GGA GGT GGA GCT AGC ...
 Met Gly Ala Arg Leu Pro Val Pro Asp Pro Asp Ile Trp Ala Ala Ala Gln Gln Ala Ser Arg Ile Arg Gly Gly Gly Ala Ser ... GFP cds

-fA2

SacII optimized ATG ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI Flexible Linker NheI
 ... CCG CGG GGC ACC ATG GAG GGC CGG GTT ACC GGT ACC GGA TCC AGA TAT CTG GGC GGC CGC TCA GCA AGG TTC GCG AAT TOG GGA GGC GGA GGT GGA GCT AGC ...
 Met Glu Gly Pro Val Thr Gly Thr Gly Ser Arg Tyr Leu Gly Gly Arg Ser Ala Ser Phe Ala Asn Ser Gly Gly Gly Ala Ser ... GFP cds

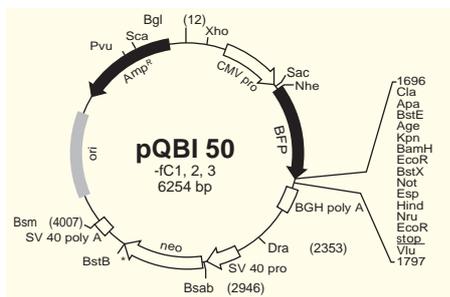
-fA3

SacII optimized ATG ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI Flexible Linker NheI
 ... CCG CGG GGC ACC ATG GAA GGC CCC GGT TAC CCG TAC CCG ATC CAG ATA TCT GGG CGG CCG CTC AGC AAG CTT CGC GAA TTC GGA GGC GGA GGT GGA GCT AGC ...
 Met Glu Gly Pro Gly Tyr Arg Tyr Arg Ile Gln Ile Ser Gly Arg Pro Leu Ser Lys Leu Arg Glu Phe Gly Gly Gly Ala Ser ... GFP cds

BFP pQBI 50-fC1, -fC2, -fC3

クローニングされたタンパク質遺伝子を N 末端で BFP 融合タンパク質として生成させるためにデザインされています。フレキシブルリンカーを含みます。

(pQBI 50-fC1,-fC2,-fC3 のクローニングサイト)



-fC1

ClaI Flexible Linker ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI MluI
 ... BFP ATC GAT GGA GGC GGA GGT GGA GGG CCC GGT TAC CCG TAC CCG ATC CAG ATA TCT GGG CGG CCG CTC AGC AAG CTT CGC GAA TTC TGA CTAAC TAGACGCGT...
 Ile Asp Gly Gly Gly Gly Gly Ala Arg Leu Pro Val Pro Asp Pro Asp Ile Trp Ala Ala Ala Gln Gln Ala Ser Arg Ile Leu Thr Asn ...

-fC2

ClaI Flexible Linker ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI MluI
 ... BFP ATC GAT GGA GGC GGA GGT GGA AGG GGC CGG TTA CCG GTA CCG GAT CCA GAT ATC TGG GCG GCC GCT CAG CAA GCT TCG CGA ATT C T G A C T A A C T A G A C G C G T
 Ile Asp Gly Gly Gly Gly Gly Lys Ala Arg Leu Pro Val Thr Gly Thr Gly Ser Arg Tyr Leu Gly Gly Arg Ser Ala Ser Phe Ala Asn Ser Asp ...

-fC3

ClaI Flexible Linker ApaI BstEII AgeI KpnI BamHI EcoRV BstXI NotI CeuIII HindIII NruI EcoRI MluI
 ... BFP ATC GAT GGA GGC GGA GGT GGA AAG GGC CGG GTT ACC GGT ACC GGA TCC AGA TAT CTG GGC GGC CGC TCA GCA AGC TTC GCG AAT TC T G A C T A C T A G A C G C G T
 Ile Asp Gly Gly Gly Gly Gly Lys Ala Arg Leu Pro Val Thr Gly Thr Gly Ser Arg Tyr Leu Gly Gly Arg Ser Ala Ser Phe Ala Asn Ser Asp ...

(次頁に続く)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
549-01021	Green Fluorescent Protein Vector pQBI 25-fA1 【GFP pQBI 25-fA1】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000
546-01031	Green Fluorescent Protein Vector pQBI 25-fA2 【GFP pQBI 25-fA2】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000
543-01041	Green Fluorescent Protein Vector pQBI 25-fA3 【GFP pQBI 25-fA3】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000
540-01051	Blue Fluorescent Protein Vector pQBI 50-fC1 【BFP pQBI 50-fC1】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000
547-01061	Blue Fluorescent Protein Vector pQBI 50-fC2 【BFP pQBI 50-fC2】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000
544-01071	Blue Fluorescent Protein Vector pQBI 50-fC3 【BFP pQBI 50-fC3】	遺伝子研究用	20 μ g	33,000

〔関連商品〕

GFP pQBI 25	BFP pQBI 50	GFP pQBI-pgk	GFP pQBI-pol	GFP pQBI 63	BFP pQBI 67
546-00811	546-00791	540-00831	547-00841	543-00821	549-00801
容量:各 20 μ g	希望納入価格:各 33,000円				

抗体

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
542-00771	Anti-Auto Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody (Clone:3E6)	免疫化学用	150 μ g	28,500
549-00781	Anti-Auto Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody (Clone:11E5)	免疫化学用	150 μ g	28,500

組換えタンパク質

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
545-00901	Green Fluorescent Protein, recombinant, Soln.	生化学用	25 μ g	14,000
542-00891	Blue Fluorescent Protein, recombinant, Soln.	生化学用	25 μ g	14,000

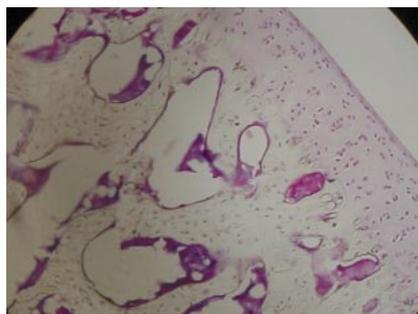
関連商品の詳細につきましては、別途お問合せ下さい。

ビラヌエバ骨染色液
病理研究用

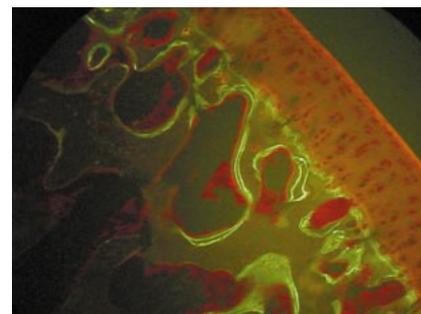
非脱灰硬組織の染色にビラヌエバ骨染色液が使用されますが、この染色法は石灰部と類骨の染め分けが可能で、蛍光観察によりテトラサイクリン等の標識を含めた骨組織の観察に適しています。あらかじめメタノールで調製済みですので、そのままお使い頂けます。

〔染色方法〕

70% エタノール固定済みまたは未固定の標本をビラヌエバ骨染色液に入れる。室温下3～10日間置く。時々、真空引きをすると色素の浸透が良くなりムラのない染色ができる。染色操作後は、脱水 樹脂包埋 薄切切片作製を行う。



明視野 (× 400)



蛍光(テトラサイクリン)(× 400)

〔染色結果〕

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

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
222-01445	Villanueva Bone Stain Solution	500ml	9,500

骨や歯の樹脂包埋がより手軽に！

前号 Vol.68 No.2 で非脱灰硬組織の樹脂包埋用キット「オステオレジン™ 包埋キット」をご紹介しました。今回はキットご使用に際し、技術的な内容を Q&A の形式にまとめました。

～オステオレジン™ 包埋キット Q&A～

Q: 包埋容器は何を使用すれば良いですか？

A: 蓋付きのガラス瓶やポリ容器が手軽にご使用頂けます。重要なことは MMA 樹脂包埋は密栓下で行うことが必要なので必ずしっかりと蓋が締る容器をお使い下さい。なお、基本的に包埋完了後は容器を壊してブロックを取出すことになるので容器の再利用は困難です。市販品で高価ではありますが、繰り返し使用が可能な専用容器「密栓式テフロンモールドトレイ（ライカマイクロシステムズ（株）製）」もあります。当社までお問合せ下さい。

Q: 包埋ブロックに気泡が残ってしまいます。どうすればきれいに包埋できますか？

A: 標本のまわりに粒状に気泡がついている場合は脱水操作不良が原因です。エタノールによる脱水時間を長くするか、液の交換をこまめにして脱気を繰り返し行って下さい。

専用のテフロンモールドトレイをご使用時にトレイの上部にできる気泡は密栓不良が原因ですが、薄切には特に影響ありません。また、重合温度が約 60 以上になると包埋ブロックに気泡が残りやすいので、包埋容器を冷やしながら重合させ温度が上がりにすぎないようにご注意下さい。

Q: 重合熱により何度くらいまで温度が上昇しますか？

A: 包埋容器にガラス容器を使用し、これを水の張った容器（例：シャーレ）に浸した状態で重合させると、約 40～45 に温度が上昇します。組織が大きいと樹脂量も多くなりますので重合熱も上昇します。なお、長期間を要してもかまわない場合は冷蔵庫で約 2 ヶ月かけてゆっくり重合させる方法もあります。

Q: 真空引きはどのくらいの時間で引くのが良いですか？ またどのくらいの強さが必要でしょうか？

A: エタノールでは約 40 分、キシレンでは約 30 分を目安して下さい。引き始めてから約 30 分後に気泡が出始めることがありますが、最終的に気泡が出ないことを確認することが重要です。

樹脂の浸透時は約 10～60 分を目安にします。このとき減圧ポンプを保護する（気化した MMA がポンプ中に入ると固まってしまう）ために減圧した後すぐにコックを閉めてポンプを止め、ホースを抜き取っておきます（減圧状態は保たれます）。時々衝撃を与えて脱気を促します。終了時、大気圧へは静かに徐々に戻します。減圧の強さは標本から気泡がでる程度を目安して下さい。

Q: 染色工程や脱樹脂の最中に切片が剥がれてしまうがどうしたらよいでしょうか？

A: 一般のスライドグラスでもお使いになれますが、切片が剥がれるようでしたら、シランコート処理されたスライドグラスをお使い下さい。大切なことは圧力と熱により皺延ばしとスライドグラスへの固定をしっかりと行うことです。

Q: *in situ* ハイブリダイゼーションも可能ですか？

A: 現在のところ実施データはありません。しかしながら、従来より MMA 樹脂包埋においては可能との知見があります。基本的にパラフィン包埋による染色方法は可能です。また TRAP 染色や免疫染色も可能です。

Q: ミクロトームはどういったものを使えば良いでしょうか？

A: 樹脂ブロックの薄切には樹脂専用のミクロトームをお使い下さい。パラフィンブロック用のミクロトームは使用できません。パラフィンブロック用ミクロトームの刃を樹脂用のタングステンカーバイト製に付け替えても切片が均一に切れず、最悪の場合は機械そのものに支障がでる恐れがあります。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
297-56001	OsteoResin™ Embedding Kit	病理組織包埋用	1kit	20,000

第 11 話(最終回) アポトーシスと免疫

プログラム化された細胞の死、アポトーシスは、免疫系の発生過程における構築、抗原刺激に対する免疫応答の調節、免疫系のエフェクター活性の発現の3つのステージで重要な働きをする。各ステージにおけるアポトーシスの機序にはそれぞれ特徴があり、不明な点も多い。一方、リンパ球はアポトーシスに向かわないために生のシグナルを受けつづける必要がある。免疫系は、生と死のシグナルの絶妙なバランスのもとで、動的に均衡を保っており、これが破綻すると自己免疫病や免疫系の腫瘍が発生する。以下、Tリンパ球の場合を例として、免疫系とアポトーシスのかかわりの要点を記す(表1)。

Tリンパ球のレパトア形成とアポトーシス

ヒトを含む哺乳動物の場合、2つのリンパ球ポピュレーション、Tリンパ球とBリンパ球のレパトアは、それぞれ胸腺と骨髄で形成される。胎生14~15週に完成する胸腺は、胎児肝や骨髄で一定の分化段階を終えた細胞を前胸腺細胞として受け入れる。前胸腺細胞は胸腺被膜下で増殖分化を繰り返して多数の胸腺リンパ球をつくる。胸腺リンパ球は、CD4⁻CD8⁻のダブルネガティブ細胞、CD4⁺CD8⁺のダブルポジティブ細胞、ついでCD4⁺(Th)またはCD8⁺(Tc)のシングルポジティブ細胞へと分化する。初期分化段階のCD4⁺CD8⁺細胞のうち、自己のMHCと弱く結合するT細胞レセプター(TCR)を発現するポピュレーションが、胸腺皮質において正の選別を受けて生き残る¹⁾。胸腺リンパ球の95%以上が、この正の選別を受けることなく細胞死に至る。この細胞死のしくみ

表 1. Tリンパ球とアポトーシスのかかわり

事項	関与するTリンパ球亜群	伝達されるシグナルの種類	シグナル伝達の概要
正の選別 (ポジティブセレクション)	CD4 ⁺ CD8 ⁺ 初期 自己MHCと弱く結合するTCRを発現	生のシグナル	TCR ?
負の選別 (ネガティブセレクション)	CD4 ⁺ CD8 ⁺ 末期 自己MHC + 自己抗原と強く結合するTCRを発現	死のシグナル	TCR、補助膜刺激分子 ミトコンドリア カスパーゼ9 カスパーゼ3
ナイーブ細胞の生存	末梢の成熟Tリンパ球	生のシグナル	IL-3, CD28 PI3-K Akt Bad/NF-kB
活性化誘導細胞死	活性化Thリンパ球	死のシグナル	TCR Fas発現 カスパーゼ8 カスパーゼ3
標的細胞破壊	CTL, NK細胞 (エフェクター細胞)	死のシグナル	パーホリン/グランザイム Fas カスパーゼ8

は明らかでないが、TCRから伝達される生のシグナルが欠除することによってアポトーシスが誘導されると考えられている。関連してこの分化段階の胸腺細胞は、X線やコルチコステロイドに特に高い感受性を示し、アポトーシスによる細胞死を起こしやすい。

正の選別を受けて生き残った胸腺リンパ球のうち、自己抗原ペプチドとMHC分子の複合物と強く結合するTCRを発現するポピュレーションが、次に負に選別される。この負の選別は、胸腺髄質に移動した末期の分化段階のCD4⁺CD8⁺細胞におこる²⁾が、正の選別で生き残った細胞の80%以上が負の選別によって細胞死するといわれる。この負の選別には、Fasなどの「死」の受容体は必須の因子としては関与せず、ミトコンドリアとミトコンドリアの働きを調節するBcl-2ファミリーの分子群、すなわち、「生」を促進するBcl-2サブファミリーの分子と「死」を促進するBax/BH3サブファミリーの分子が重要な働きをする。TCRやCD28などの補助膜刺激分子から細胞内に入るシグナルの質と量³⁾に規定されてこれらの働きが調節され、生死が決定されるものと推定される。なお、負の選別は、同様のしくみによって、

特定の分化段階のBリンパ球でもおこる。

活性化Thリンパ球のフィードバック制御とアポトーシス

胸腺から末梢リンパ組織に放出された成熟Thリンパ球は、抗原刺激を受けて活性化した後、多くがアポトーシスにより死滅していく。これは、活性化に伴って細胞表面にFasなどの「死」の受容体が発現するようになり、これにFasリガンド(FasL)などを発現する調節性Tリンパ球(Tcリンパ球/CTLなど)が作用するというフィードバック制御によっておこるものと考えられている。FasまたはFasLの機能が遺伝的に欠損するMRL/lprマウスやMRL/gldマウスでは、この機序が欠除するため、異常な表現型を示すTリンパ球が排除されることなく増加し、抗核抗体の産生を伴う自己免疫病が発症する。IL-2Rβ鎖欠損マウスやIL-2欠損マウスでも、活性化Thリンパ球の異常な増加を伴って自己免疫病が発症するが、この場合には、活性化Thリンパ球にアポトーシスを誘導する調節性Tリンパ球のはたらきが欠失することによることが証明されている⁴⁾。

Tc リンパ球 (CTL)、NK 細胞のエフェクター活性とアポトーシス

免疫のエフェクター活性を担う CTL や NK 細胞は、ウイルス感染細胞やがん細胞に、2 つの機序でアポトーシスを誘導する。一つは、補体第 9 成分類似のパーホリンによって膜に小穴が明けられ、ここから細胞内に入ったグランザイムによるもの、もう一つは、エフェクター細胞上の FasL が標的細胞上の Fas に作用することによるものである。また、マクロファージや CTL がつくる TNF も、がん細胞など標的細胞上の TNF レセプター (TNFR) に作用してアポトーシスを誘導する。

生死決定の細胞内シグナル伝達の経路

免疫系の細胞の生死を決定する細胞内シグナル伝達の経路は、他の細胞系におけるそれと基本的に同じである (図 1)。抗原受容体や補助膜刺激分子を介して細胞内に伝達されるシグナルは、Ras/MAPK (ERK) /AP-1 経路や PI3-K/Akt/NF-κB 経路を介して、または受容体の活性化等に伴って産生される活性酸素種 (ROS) を介して、ミトコンドリアとカスパーゼ 9 の経路を活性化し、あるいは抑制する⁵⁾。また、「死」の受容体とそのリガンドの発現を促進して、両方の結合により起動するカスパーゼ 8 の経路を活性化する。最

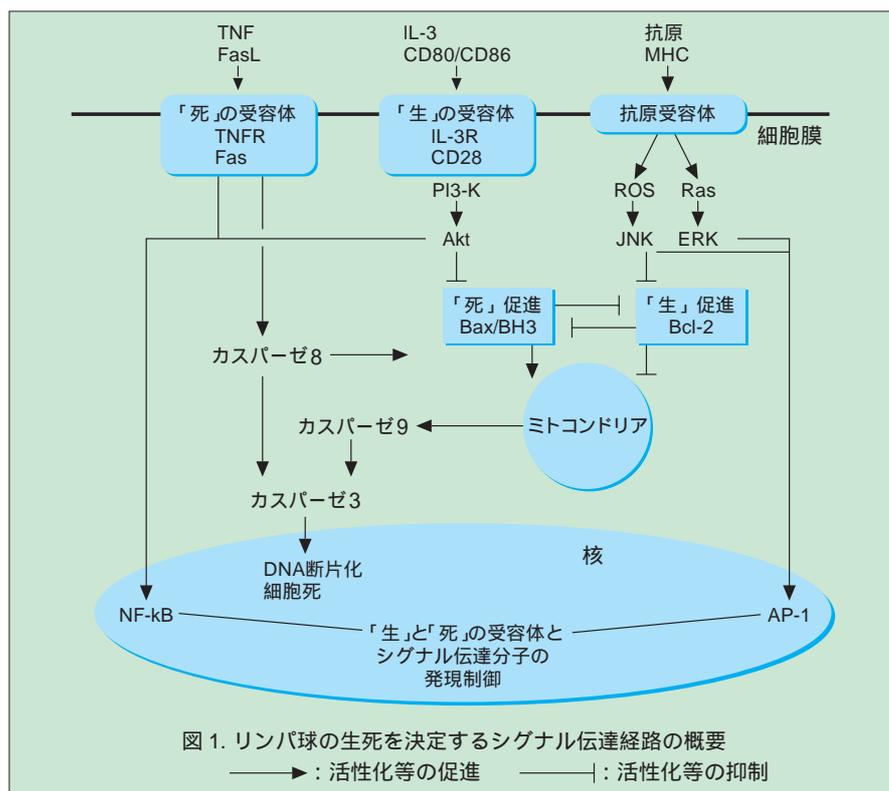


図 1. リンパ球の生死を決定するシグナル伝達経路の概要

→ : 活性化等の促進 - - - : 活性化等の抑制

最終的に、カスパーゼ 3 などのアポトーシスの実行分子や DNase の活性が促進または抑制されて、細胞の生死が決定される。

〔参考文献〕

1) Anderson, G., Hare, K.J. and Jenkinson, E.J.: Positive selection of thymocytes: the long and winding road. *Immunol. Today* 20:463-468, 2000.
 2) Sprent, J. and Kishimoto, H.: T cell tolerance and the thymus. *Annals NY. Acad. Sci.* 841:236-245, 1998.
 3) Akhand, A.A., Pu, M., Du, J., Kato,

M., Suzuki, H., Hamaguchi, M. and Nakashima, I.: Magnitude of protein tyrosine phosphorylation-linked signals determines growth versus death of thymic T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* 27:1254-1259, 1997.

4) Suzuki, H., Zhou, Y. W., Kato, M. and Nakashima, I.: Normal regulatory $\alpha\beta$ T cells effectively eliminate abnormally activated T cells lacking the IL-2 receptor β in vivo. *J. Exp. Med.* 190:1561-1571, 1999.

5) 中島 泉: 新たなアポトーシス誘導因子 (AIF) の発見 特集 II 「アポトーシスの新たな動向」臨床免疫 32 (4) : 417-425, 1999

コード No.	品名	用途	規格	容量	希望納入価格(円)
010-16851	Anti Human Bcl-xL, Monoclonal Antibody (HBx-2F3)	ウエスタンブロット、免疫沈降	免疫化学用	100 μ g	35,000
013-16101	Anti Human Bcl-2, Monoclonal Antibody (Bcl-2/100)	ウエスタンブロット、免疫沈降、免疫組織染色	免疫化学用	100 μ g	32,000
017-16481	Anti Rat Bcl-2, Monoclonal Antibody (B248)	ウエスタンブロット	免疫化学用	100 μ g	30,000
015-18121	Anti Human Activated Caspase-3, Monoclonal Antibody	ウエスタンブロット	免疫化学用	1ml	35,000
010-17331	Anti Human Activated Caspase-3, Rabbit	ウエスタンブロット	免疫化学用	100 μ l	35,000
018-17131	Anti Human Activated Caspase-4, Rabbit	ウエスタンブロット	免疫化学用	500 μ l	40,000
039-17401	Caspase-3, Human, recombinant	—	生化学用	5 μ g	55,000
036-17411	Caspase-8, Human, recombinant	—	生化学用	3,000units	55,000
019-16181	Anti Human Fas, Rabbit	パラフィン切片染色	免疫化学用	100 μ l	35,000
015-17261	Anti Mouse Fas, Rabbit	パラフィン切片染色	免疫化学用	100 μ l	30,000
012-17271	Anti Rat Fas Ligand, Rabbit	パラフィン切片染色	免疫化学用	100 μ l	30,000
019-18521	Anti Human DNase, Monoclonal Antibody	ウエスタンブロット	免疫化学用	100 μ g	近日発売

プロスタノイドの中樞神経系での作用(2)

旭川医科大学 薬理学講座 牛首 文隆

前稿では、プロスタノイドの中樞作用として、発熱と痛覚の可塑性について紹介した。本稿では、プロスタノイドの睡眠・覚醒作用と神経内分泌系に対する作用を中心に、プロスタノイドの中樞作用を紹介したい。

二十世紀に入って、多くの液性因子が睡眠調節物質として取り上げられてきた。これらの物質の中で、早石修先生を中心とするグループが、プロスタグランジン(PG)の睡眠調節因子としての役割と、その分子機構を明らかにしつつある。睡眠には、いくつかの側面が存在する。睡眠には、日内リズムがあり、一日のなかでの睡眠の時間帯が決まっている。また、一回の睡眠においても、ノンレム睡眠とレム睡眠が周期的に繰り返される。これらの、周期性は中枢神経系自身が作り出していると考えられている。一方、液性の睡眠物質は、これらの周期性が乱れた場合の調節や、種々の病態下における睡眠の変化に関与することが考えられる。従来、PGD₂が睡眠を惹起し、PGE₂が覚醒作用を示すことが知られている¹⁾。PGD₂を脳室内に投与すると、睡眠が惹起される。この睡眠は、脳波、体温や心拍数などのパラメータで比較すると生理的睡眠と差がないことが知られている²⁾。また、この外因性のPGD₂の作用部位が詳細に解析され、前脳底部吻側の腹側部表面に存在することが明らかにされた³⁾。一方、PGD₂は脳内で産生される主要なPGであり、その合成酵素は脳軟膜や脈絡膜に存在している。また、この合成酵素は脳脊髄液中に多量に分泌されており、PGD₂の合成以外にその標的細胞へのキャリアーとして働くことが示唆されている。実際、PGD₂受容体は脳軟膜に発現しており、特に脳底部での発現が強い⁴⁾。一方、視床前野腹外側部に存在する抑制性ニューロンは、脳の覚醒維持に重要な結節乳頭核に存在するヒスタミン性ニューロンを抑制する

ことが知られている。PGD₂投与により、c-fosを指標とした神経活動が視床前野腹外側部で上昇し、結節乳頭核で低下することから⁵⁾、PGD₂はこの視床下部に存在する睡眠・覚醒調節に関与する神経に影響を与え、睡眠を惹起すると考えられる。そこで、残された問題として、PGD₂がその作用部位である前脳底部吻側の腹側部表面に存在する受容体に作用した後に起こる情報伝達が挙げられる。この部位で、PGD₂で刺激された軟膜細胞が何らかの液性因子を産生し、それが視床前野腹外側部に存在する抑制性ニューロンを刺激する可能性が考えられる。この点に関連して、PGD₂の睡眠作用にはアデノシン受容体A_{2a}の関与が示唆されている⁶⁾。最近、PGD₂合成酵素欠損マウス⁷⁾やPGD₂受容体欠損マウス⁸⁾が作出されており、これらの動物を用いた解析により、PGD₂の睡眠作用のメカニズムが解明されることが期待される。図1に、PGD₂の睡眠作用の経路を模式的に示す。

一方、PGD₂とは逆に、PGE₂には睡眠抑制・覚醒作用が知られている⁹⁾。前稿で紹介したように、PGE₂は発熱の最終メディエーターとして作用するが、その作用部位は第3脳室前部のOVLTである。しかし、外因性PGE₂の覚醒作用は、視床下部後部の結節乳頭核で強いことが知られている¹⁰⁾。さらに、視床下部のPGE₂含量は、睡眠時に低く、覚醒時に高い。また、PGE₂の覚醒作用には、グルタミン酸受容体であるAMPAの関与が示唆されている。しかし、PGE₂の産生細胞やその調節機構の詳細は不明である。また、4種類存在するPGE₂受容体サブタイプのどれが、この覚醒作用に関与するのかも不明であり、今後の解析が必要である。

種々のストレスによって、視床下部-下垂体-副腎系が活性化され、副腎からそのストレスに対抗するための

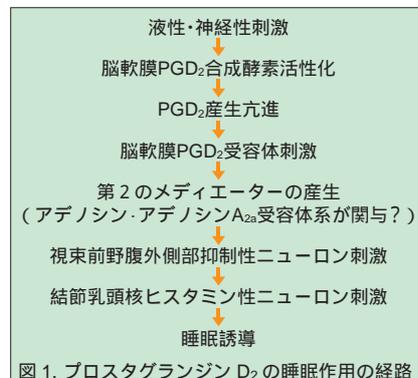


図1. プロスタグランジン D₂ の睡眠作用の経路

ホルモンである鉱質コルチコイドや糖質コルチコイドが分泌される。この過程で、PGE₂を中心としたPGがその制御に関与することが知られている。特に、視床下部でのCRH分泌の制御にPGE₂が働くと考えられている。例えば、PGE₂を脳室内に投与すると、視床の傍室核に存在するCRH含有ニューロンでのc-fosやCRHの発現が観察される¹¹⁾。また、PGE₂受容体サブタイプであるEP₁受容体が、傍室核に発現していることが*in situ* hybridization法によって確認されている¹²⁾。一方、脳内でのPGE₂産生にはストレスによって産生されるサイトカインが、血液-脳関門が脆弱となっている脳室周辺器官に働いて産生される。なかでも、視床下部視床前野が注目されている。この部位にPGE₂を投与すると、傍室核にc-fosが発現誘導され¹³⁾、ACTHの分泌が亢進する。また、このACTHの分泌亢進は抗CRH抗体によって抑制される¹⁴⁾。これらの結果は、PGE₂の視床下部-下垂体-副腎系に対する作用部位として、視床傍室核や視床下部視床前野など複数存在する可能性を示唆している。現在、PGE₂が視床下部-下垂体-副腎系の制御にどの程度重要な役割を果たすかについて、PGE₂受容体欠損マウスを用いた解析が進められている。プロスタノイドの中樞神経系における作用には、まだ不明な点が多く残されている。最近、種々の刺激にとりま

い、プロスタノイド産生の律速酵素と考えられているサイクロオキシゲナーゼの誘導型(COX-2)が脳において発現誘導されることが報告されている。また、多種類のプロスタノイド受容体が、脳に発現していることも報告されている。これらの結果は、プロスタノイドが中枢神経において、今回紹介した以外にも生理的・病態生理的に重要な役割を果たすことを示唆している。近い将来、これらの役割が解明されることが期待される。

〔参考文献〕

1) Hayaishi, O.: FASEB J, 5, 2575 (1991)
 2) Onoe, H., Ueno, R., Fujita, I., Nishino, H., Oomura, Y. & Hayaishi, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 85,

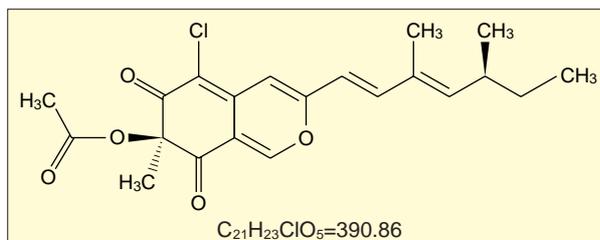
4082 (1988)
 3) Matsumura, H., Nakajima, T., Osaka, T., Satoh, S., Kawase, K., Kubo, E., Kanta, S.S., Kasahara, K. & Hayaishi, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 91, 11998 (1994)
 4) Oida, H., Hirata, M., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ohishi, H., Mizuno, N., Ichikawa, A. & Narumiya, S.: FEBS Lett., 417, 53 (1997)
 5) Scammell, T., Gerashchenko, D., Urade, Y., Onoe, H., Saper, C. & Hayaishi, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 95, 7754 (1998)
 6) Satoh, S., Matsumura, H., Suzuki, F. & Hayaishi, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 93, 5980 (1996)
 7) Eguchi, N., Minami, T., Shirafuji, N., Kanaoka, Y., Tanaka, T., Nagata, A., Yoshida, N., Urade, Y., Ito, S. & Hayaishi, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 96, 726 (1999)
 8) Matsuoka, T., Hirata, M., Tanaka, H.,

Takahashi, Y., Murata, T., Kabashima, K., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., Ushikubi, F., Aze, Y., Yoshida, N., Honda, Y., Nagai, H. & Narumiya, S. Science, 287, 2013 (2000)
 9) Matsumura, H., Honda, K., Goh, Y., Ueno, R., Sakai, T., Inoue, S. & Hayaishi, O.: Brain Res., 481, 242 (1989)
 10) Onoe, H., Watanabe, Y., Ono, K., Koyama, Y. & Hayaishi, O.: J. Neurosci., 12, 2715 (1992)
 11) Lacroix, S., Vallieres, L. & Rivest, S.: J. Neuroimmunol., 70, 163 (1996)
 12) Batshake, B., Nilsson, C. & Sundelin, J.: Eur. J. Biochem., 231, 809 (1995)
 13) Scammell, T.E., Elmquist, J.K., Griffin, J.D. & Saper, C.B.: J. Neurosci., 16, 6246 (1996)
 14) Watanabe, T., Morimoto, A., Sakata, Y. & Murakami, N.: Experientia, 46, 481 (1990)

Sclerotiorin
 生化学用

糸状菌 *Penicillium sclerotiorum* の黄色色素成分から分離されたスクレロチオリン^{1,2)}は抗腫瘍活性³⁾、菌類の厚膜胞子様細胞誘導活性⁴⁾、gp120-CD4 結合阻害⁵⁾、エンドセリンアンタゴニスト活性⁶⁾ など幅広い生理活性を持つ事が知られています。最近ではアラキドン酸カスケードの開始酵素として位置づけられているホスホリパーゼ A2 の阻害作用⁷⁾が知られています。またトリアシルグリセロールなどの非極性脂質をリポタンパク質間で輸送するコレステロールエステル輸送タンパク質

(CETP) を非常に低濃度 (IC₅₀=19.4μM) で阻害⁸⁾することが報告され、高脂血症への応用に注目されています。



〔起 源〕 *Penicillium sclerotiorum*
 〔規 格〕 含量(HPLC):97.0% 以上
 〔参考文献〕
 1) Curtin T.P. et al : Biochem. J., 34, 1419 (1940)
 2) Udagawa, S. et al : Chem. Pharm. Bull., 11, 366 (1963)
 3) Schwenk et al : Arzneimittelforsch., 12, 114 (1962)
 4) Natsume, M. et al : Agric. Biol.

Chem., 52, 307 (1988)
 5) Omura, S. et al : J. Antibiot., 46, 1908 (1993)
 6) Pairet, L. et al : J. Antibiot., 48, 913 (1995)
 7) Nakamura, K. et al : 公開特許広報, 平2-255615.
 8) Tomoda, H. et al : J. Antibiot., 52, 160 (1999)

196-12161	25mg	18,000 円
-----------	------	----------

COX-2 特異抗体

Anti Mouse COX-2, Rabbit
 免疫化学用

COX (シクロオキシゲナーゼ) は、プロスタグランジン H 合成酵素とも呼ばれ、アラキドン酸からプロスタグランジン H の合成を触媒します。COX には、胃や腎臓の機能に不可欠な COX-1 と感染等により一過性に誘導され炎症・発熱などを惹起する COX-2 が知られています。本抗体は種を超えて COX-2 のみを認識する特異性の高いもので、現在精力的に進められている COX-2 阻害剤の開発に有用なツールとなります。

免疫原：COX-2 の C 末端アミノ酸配列 580-594 に相当する合成ペプチド
 形 状：ウサギ抗血清の凍結乾燥品 (3%BSA 含)
 特異性：マウス、ラット、ヒト COX-2 を認識
 実用希釈倍数：
 ウェスタンブロット 1 : 2,000

014-18071	100μl 用	20,000 円
-----------	---------	----------

■ 近日発売 ご案内

Anti Bovine COX, Rabbit

特異性 / 交叉性：ヒト、ラット、マウスの COX-1, COX-2 を認識

実用希釈倍率：
 ウェスタンブロット 1:1,000
 015-18501 100μl 用 照 会

Anti Human COX-1, Monoclonal Antibody

特異性 / 交叉性：ヒト、ラット、マウス、ヒツジの COX-1 を認識

使用濃度：
 ウェスタンブロット 5μg/ml

012-18511	500μg	照 会
-----------	-------	-----

高血圧の研究に

アンギオテンシン変換酵素(ACE)と阻害剤

血圧の調節はいくつかの調節系の相互作用によって行われていますが、このうち最も重要なのがレニン・アンギオテンシン(RA)系です。このRA系は腎臓の傍系球体細胞からのレニン分泌にはじまり、最終的にアンギオテンシンが受容体に作用して血圧上昇などの生理活性を発現します。現在、アンギオテンシン変換酵素(ACE)の阻害剤や、アンギオテンシン受容体の拮抗薬が降圧剤として利用されていますが、RA系のもたらす様々な生理活性については、まだまだ十分に解明されたとは言えません。最近では、RA系と心不全等の関係も指摘されており、今後も循環器系における重要なテーマです。

当社では、RA系に関わる様々な試薬を取揃えておりますので、ご活用下さい。

アンギオテンシン変換酵素(ACE)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-18341	アンギオテンシン変換酵素、ウシ肺製	生化学用	0.2unit	4,400
017-18343			1unit	15,000
015-18344			5units	60,000

ACE 阻害剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-18081	アラセプリル	生化学用	1g	8,000
017-18083			5g	26,000
024-14091	塩酸ベナゼプリル	生化学用	1g	9,800
020-14093			5g	39,200
128-04711	リシノプリル二水和物	生化学用	1g	8,000
124-04713			5g	26,000
051-06711	マレイン酸エナラプリル	生化学用	1g	8,000
057-06713			5g	26,000

生理活性ペプチド

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-18151	アンギオテンシン	生化学用	1mg	3,800
012-18153			10mg	18,000
014-18211	アンギオテンシン	生化学用	10mg	13,000
013-18161	[VAL5] アンギオテンシン	生化学用	5mg	8,000
019-18163			50mg	48,000

HMG-CoA レダクターゼ阻害剤

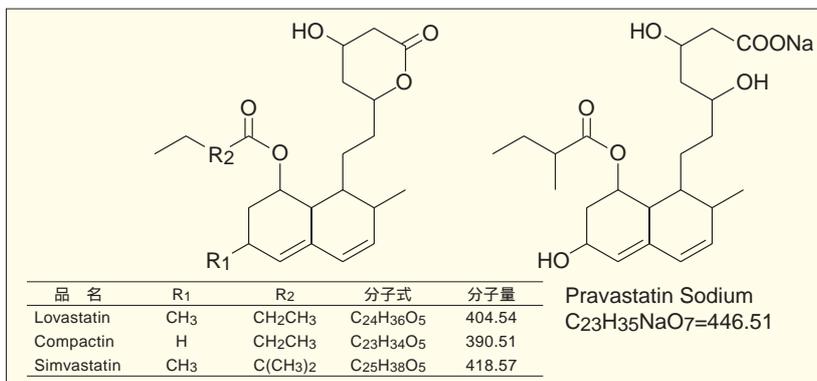
プラバスタチン, シムバスタチン, ロバスタチン, コンパクチン 生化学用

3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素A(HMG-CoA)レダクターゼは一連のコレストロール生合成反応における律速酵素であるため、その阻害剤はとりわけ高脂質治療薬として注目されてきました。1976年にコンパクチンが最初に開発され、現在では構造が類似したロバスタチン、シムバスタチンやプラバスタチンがスタチン系薬剤として臨床応用されています。その他の用途としてファルネシル化をこれらの薬剤で阻害することにより、Rasタンパク質の膜局在化を阻止することが報告されており、がん研究の分野でも脚光を浴びています。また昆虫ホルモン分泌の抑制、糖尿病など幅広い分野にてその薬理作用が解明されつつあります。最近では破骨細胞による骨吸収を抑制することも分かり、骨粗鬆症研究にもご利用頂けます。

〔規格〕

含量：95.0%以上

溶状：メタノールに可溶



〔参考文献〕

- 1) 松本省吾：バイオサイエンスとインダストリー，53(9)，16(1995)
- 2) 吉田稔：蛋白質・核酸・酵素，41(12)，1751(1996)
- 3) Singer, I.I. et al：Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 5264(1988)
- 4) Endo, A. et al：FEBS LETTERS, 72, 323(1976)
- 5) Ozawa, R. et al：Regul. Pept., 57, 319(1995)

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
162-19821	Pravastatin Sodium	25mg	13,000
168-19823		100mg	39,000
193-12051	Simvastatin	25mg	13,000
199-12053		100mg	39,000
125-04581	Lovastatin	25mg	17,000
033-17301	Compactin	25mg	19,000

プロテインキナーゼ C、ヒト、組換え体、溶液

生化学用

プロテインキナーゼ C (PKC) は、種々の細胞外刺激に伴って生成する細胞膜りん脂質代謝産物により活性化されるセリン / トレオニンキナーゼで、りん脂質依存性プロテインキナーゼです。この酵素は細胞内情報伝達などに深く関わるキナーゼとして知られています。哺乳類においては、3 群に分類される 11 種の異なった分子種が存在し、各分子種おのおの酵素的性質、発現の細胞特異性等が異なります。

本品は、バキュロウイルスより、発現した組換え体ヒトプロテインキナーゼ C です。

起 源：昆虫細胞に感染させたバキュロウイルスより、発現したヒトプロテインキナーゼ C

形 状：20mmol/ml HEPES (pH 7.4), 2mmol/l EDTA, 2mmol/l EGTA, 5mmol/l DTT, 100mmol/l NaCl, 0.05% Triton X-100, 50 % グリセロール溶液

純 度：95 % 以上 (SDS-PAGE)

比 活 性：ロット毎に表示

貯 法：-80

[参考文献]

- 1) Nishizuka, Y. : *Science*, 233, 305 (1986)
- 2) Jaken, S. : *Curr. Opin. Cell Biol.*, 8, 168 (1996)

- 3) Hug, H. and Sarre, T.F. : *Biochem. J.*, 291, 329 (1993)
- 4) Kazanietz, M.G. *et al.* : *Mol. Pharmacol.*, 44, 298 (1993)
- 5) Newton, A.C. : *J. Biol. Chem.*, 270, 2849 (1995)
- 6) Epand, R.M. : *Anal. Biochem.*, 218, 241 (1994)
- 7) Dekker, L.V. and Parker, P.J. : *Trends Biochem. Sci.*, 19, 73 (1994)
- 8) Nishizuka, Y. : *Science*, 258, 607 (1992)
- 9) Asaoka, Y. *et al.* : *Trends Biochem. Sci.*, 17, 414 (1992)
- 10) Bell, R.M. and Burns, D.J. : *J. Biol. Chem.*, 266, 4661 (1991)
- 11) Dekker, L.V. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, 268, 19498 (1993)

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
541-01081	Protein Kinase C , Human, recombinant, Soln.	5 μ g	25,000
548-01091	Protein Kinase C , Human, recombinant, Soln.	5 μ g	25,000
541-01101	Protein Kinase C , Human, recombinant, Soln.	5 μ g	25,000
548-01111	Protein Kinase C , Human, recombinant, Soln.	5 μ g	25,000
545-01121	Protein Kinase C , Human, recombinant, Soln.	5 μ g	25,000

プロテインキナーゼ阻害剤

K-252a, K-252b, K-252c, KT 5720, KT 5823

生化学用

プロテインキナーゼは情報伝達のキーエンザイムとして主要な細胞内機能を担っており、セリン / トレオニンキナーゼの 1 種である PKA (サイクリック AMP 依存性プロテインキナーゼ) PKC (りん脂質依存性プロテインキナーゼ) PKG (サイクリック GMP 依存性プロテインキナーゼ) などが知られています。それらの阻害剤として、ブロードな阻害能力を持つ K-252a を始め、PKA, PKC, PKG に特異的な阻害剤を揃えました。情報伝達系の研究用試薬としてお使い下さい。

[規 格]

含 量：95.0% 以上

溶 状：メタノールに可溶

[参考文献]

- 1) Kase, H. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 142, 436 (1987)

品 名	R ₁	R ₂	分子式	分子量
K-252a ^{1,2,3)}	H	COOCH ₃	C ₂₇ H ₂₁ N ₃ O ₅	467.45
K-252b ^{1,2,3)}	H	COOH	C ₂₆ H ₁₉ N ₃ O ₅	453.45
KT 5720 ¹⁾	H	COO(CH ₂) ₃ CH ₃	C ₃₂ H ₃₁ N ₃ O ₅	537.61
KT 5823	CH ₃	COOCH ₃	C ₂₉ H ₂₅ N ₃ O ₅	495.53

K-252c^{3,4)}
C₂₀H₁₃N₃O=311.34

- 2) Hashimoto, T. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181, 423 (1991)

- 3) Yasuzawa, T. : *J. Antibiot.*, 39, 1072

- 4) Fabre, S. *et al.* : *Bioorg. Med. Chem.*, 1 (3), 193-6 (1993)

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
113-00561	K-252a	50 μ g	10,000
119-00563		100 μ g	16,800
117-00564		250 μ g	32,000
110-00571	K-252b	50 μ g	12,000
116-00573		100 μ g	20,400
114-00574		250 μ g	39,500
542-01131	K-252c	1mg	8,000
548-01133		5mg	28,000
117-00581	KT 5720	50 μ g	13,000
113-00583		100 μ g	22,000
111-00584		250 μ g	43,000
114-00591	KT 5823	50 μ g	13,000
110-00593		100 μ g	22,000
118-00594		250 μ g	43,000

~ 近日発売 ~ 新規の IP₃ レセプター阻害剤

Xestospongins C, *Xestospongia* sp.

生化学用

海綿より単離された IP₃ レセプターの膜透過性阻害剤 (IC₅₀=358nM) です。

244-00721 100 μ g 近日発売

タンパク質の高次構造解析に

Seleno-DL-methionine

生化学用

タンパク質の三次構造の解析法である X 線結晶構造解析法には、同型置換法、多波長異常分散法、分子置換法があります。同型置換法では、ネイティブ結晶のほかに重原子を入れた誘導体結晶が必要となり、両者の回折強度の差から反射の位相を計算し構造を決定します。多波長異常分散法では、異常分散効果が異なると予想されるいくつかの波長で回折データを収集し、その強度差から構造を決定します。結晶は、異常分散効果を示す原子が結晶中に含まれている必要があります。

分子置換法は、類似タンパク質の既知構造情報を利用して解析する方法です。

このうち、近年注目を浴びているのが多波長異常分散法です。この方法は、シンクロトロン放射光からの強力な連続 X 線が回折実験に利用できるようになり、可能となった解析法です。この方法では、異常分散効果を示す原子が導入された結晶があれば構造解析でき、同型置換法のように、ネイティブ結晶のほか重原子誘導体結晶を作製する手間がいりません。

本品は、この異常分散効果を示す原子の導入に使用されます。通常メチオニンの代わりにセレン-DL-メチオニンをを用いた制限培地でメチオニン要求株を培養するとタンパク質中にセレン原子を導入できます。

199-12151	50mg	6,000 円
195-12153	500mg	36,000 円
193-12154	5g	216,000 円

膜タンパク質の可溶化に

界面活性剤

膜タンパク質の研究では、生体膜内部に埋もれている膜タンパク質の可溶化が必要となります。可溶化には、酵素処理や超音波処理などがありますが、タンパク質の変性などが心配されます。そこで、比較的温和な条件で可溶化できる界面活性剤を用いる方法が汎用されています。

Polyoxyethylene(8)Octylphenyl Ether 【 Triton X-114 】

生化学用

本品は、非イオン性界面活性剤です。温度に依存して相分離する性質があり、内在性膜タンパク質と表在性膜タンパク質の分離に利用されます。

164-19881	100ml	3,600 円
-----------	-------	---------

Polyoxyethylene(9)Octylphenyl Ether 【 NP-40, Nonidet P-40 】

生化学用

本品は、非イオン性界面活性剤です。

161-19911	100ml	6,000 円
-----------	-------	---------

Cethyldimethylethylammonium Bromide

生化学用

本品は、陽イオン性界面活性剤です。

035-17741	100g	4,500 円
-----------	------	---------

タンパク質染色試薬

Coomassie Brilliant Blue(CBB)

電気泳動用

CBB R-250

ポリアクリルアミドゲル等を支持体とした各種の電気泳動後、タンパク質の位置を検出するのに用いられます。

031-17922	25g	5,200 円
-----------	-----	---------

CBB G-250

タンパク質と結合すると色が赤から青に変わり、差スペクトルからタンパク質の定量に利用できます。

038-17932	25g	5,200 円
-----------	-----	---------

Quick CBB

CBB R-250 法を改良し、短時間で染色できるようにした調製済染色液です。脱色作業が省略できます。

299-50101	2ℓ 用	9,000 円
-----------	------	---------

第40話 エンドトキシンと Toll-like receptor

今回は、エンドトキシンの細胞への作用に関する最近の知見についてご紹介したいと思います。

血管内に侵入したエンドトキシンは、LPS Binding Protein(LBP)と結合し、白血球膜上のCD14まで運ばれます。そして、膜上のCD14にエンドトキシンが結合すると、炎症性サイトカインの産生が起こるとというのが、これまでのエンドトキシンによる炎症の理解でした。しかし、CD14はGlycosylphosphatidyl inositol(GPI)アンカータイプのタンパク質で、細胞内へシグナルを伝えることができません。このことから、白血球膜上には別のエンドトキシン受容体があると考えられてきました。最近、この分野に関連して、国内外で盛んに研究されているのが、Toll-like receptor(TLR)です^{1,2)}。

Tollは、ショウジョウバエの発生における背腹軸の決定に必須の因子としてクローニングされました³⁾。さらに、このタンパク質は、真菌や細菌の感染に対する特異的な抗菌物質の産生にも、重要な働きをしていることがわかってきました⁴⁾。最近、TollのヒトホモログとしてTLRが発見され、すでに6種類が報告されています²⁾。この中でエンドトキシンに関連すると思われるTLRが、TLR2とTLR4です。

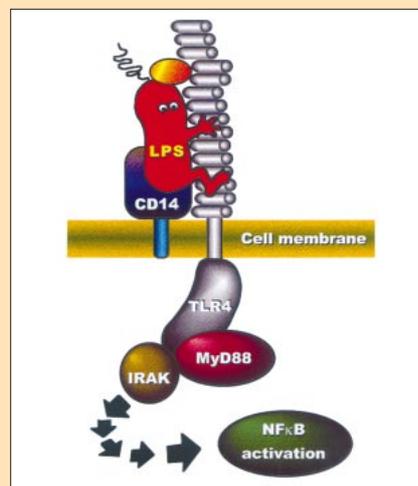
米国の研究グループは、TLR2を発現させた細胞がエンドトキシンに対する反応性を獲得すること、その反応性はCD14の存在で増幅されることを報告しています⁵⁾。さらに、TLR4を発現させた場合は、TLR2を発現させた場合のようなエンドトキシンに対する反応性の獲得は認められなかったことから、エンドトキシンのシグナル伝達を担う受容体はTLR2であるとしています。

一方、エンドトキシン低応答マウスとして知られているC3H/HeJで、TLR4遺伝子の欠損が認められたことから⁶⁾、TLR4がエンドトキシンに対する反応性に関与している可能性が示されました。さらに、日本の研究グループが、TLR2並びにTLR4のノックアウトマウスを作製し、各種菌体成分に対する反応性を解析しました²⁾。その結果、エンドトキシンに対する反応性は、TLR2ノックアウトマウスでは野生型と変わらず、TLR4ノックアウトマウスで消失しました。この結果は、エンドトキシンの受容体が、TLR2ではなく、TLR4であることを示しています。

エンドトキシンの真の受容体がTLR2かTLR4かは、まだ結論がでておらず、今後世界的に論議が盛んになると思われます。エンドトキシンに携わってきた我々にとっても、なかなか興味深いところです。この話題については、欧州/日本チームと米国チームのバトルということになるのでしょうか。

前出の日本の研究グループは、TLR2がペプチドグリカンを認識すること、TLR2及びTLR4の細胞内シグナル伝達機構に必須の因子がMyD88であることなども解明しています。海外の研究者たちは、CD14がエンドトキシンのみならず、ペプチドグリカンをはじめとする細菌細胞壁成分を認識することを報告しています。エンドトキシンが最も強い生理活性物質の一つであるという認識に変化はありませんが、実際の生体内反応は種々の物質が関与した複雑系であり、エンドトキシンの活性自身も修飾された形で現れてくると考えるべきでしょう。

ペプチドグリカンや β -グルカンによるエンドトキシン活性の促進、細菌が



持つリポタンパク質によるサイトカイン産生の誘導など、以前から話題になっていたことが、まさに分子生物学のレベルで解明されようとしています。これからはエンドトキシンだけを注目するのではなく、ペプチドグリカンやリポタンパク質など、他の微生物成分も考慮した検討が必要になってくるように思われます。

〔参考文献〕

- 1) 赤司祥子, 三宅健介: *Molecular Medicine*, 36, 488(1999)
- 2) 竹内 理, 審良静男: *実験医学*, 18, 343(2000)
- 3) Hashimoto, C. et al.: *Cell*, 52, 269(1988)
- 4) Lemaitre, B. et al.: *Cell*, 86, 973(1996)
- 5) Kirschning, C. J. et al.: *J. Exp. Med.*, 188, 2091(1998)
- 6) Poltorak, A. et al.: *Science*, 282, 2085(1998)

今回は「第41話 エンドトキシン ショック」の予定です。

貴重な試料を簡単に無駄なく扱うための透析カセット

PIERCE Slide-A-Lyzer 透析カセット

- 〔特長〕
- ▶ 煮沸や透析膜のカットが必要ありません。また、チューブをクリップする必要もありません。
 - ▶ 試料の注入、回収が容易です。透析中に試料を一部回収するなどの操作も簡単に行えます。
 - ▶ 試料に合わせて最適なサイズのカセットを選択頂けます。(0.1 ~ 0.5ml 用、0.5 ~ 3ml 用、3 ~ 12ml 用、3 ~ 15ml 用の4サイズがあります。)
 - ▶ ごみ、埃などが入らないように、個別包装のディスプレイタイプです。
 重金属がほとんど含まれておらず、煮沸の必要がないので前処理の手間がなく便利です。

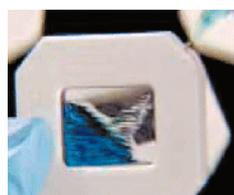
〔使用法〕



① シリンジでカセット上部のシリンジガイド部位のシリコンガスケットを突き刺しサンプルをカセット内に満たす。操作は手袋をはめて行って下さい。



④ 透析液の中に浮かせ透析を行う。



② 注射針がカセット腔に挿入されている状態で、シリンジの内筒を引き、カセット腔から空気を除去する。



⑤ 透析液からカセットを取り出し、サンプルを注入していない方のシリコンガスケットにシリンジを突きさし、カセット腔にシリンジで注意深く空気を入れる。



③ カセットをブイ(浮き)の溝にはめ込む。



⑥ カセットの透析済サンプルをシリンジで採取する。

カセットによる透析には「ブイ(浮き)」が必要です。初回ご購入の際は、専用ブイをお買い求め下さい。



Slide-A-Lyzer®
Dialysis Cassettes
cut dialysis time in
half and won't leak!

試料容量 0.1 ~ 0.5ml

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
526-43931	66333	3,500	10 個	14,900
522-43933	66334		50 個	66,100
528-43991	66373	7,000	10 個	14,900
524-43993	66374		50 個	66,100
530-61711	66415	10,000 ¹⁾	10 個	14,900
534-61611	66416		50 個	66,100
—	66452		10 個	20,600
520-44051	66383	10,000 ²⁾	10 個	14,900
526-44053	66384	Extra-Strength	50 個	66,100

試料容量 0.5 ~ 3.0ml

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
522-43911	66330	3,500	10 個	14,900
528-43913	66331		50 個	66,100
524-43971	66370	7,000	10 個	14,900
520-43973	66371		50 個	66,100
535-39151	66425	10,000 ¹⁾	10 個	14,900
533-61561	66426		50 個	66,100
—	66450		10 個	21,700
526-44031	66380	10,000 ²⁾	10 個	14,900
522-44033	66381	Extra-Strength	50 個	66,100

試料容量 3.0 ~ 12ml

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
525-43901	66110	3,500	8 個	18,300
521-43903	66111		40 個	77,500
527-43961	66710	7,000	8 個	18,300
523-43963	66711		40 個	77,500
529-44021	66810	10,000 ²⁾	8 個	18,300
525-44023	66811	Extra-Strength	40 個	77,500

試料容量 3.0 ~ 15ml

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
533-61701	66410	10,000 ¹⁾	10 個	18,300
534-61591	66411		50 個	77,500
—	66451		10 個	23,300

1) オリジナルメンブレン 2) エクストラストレングスマンブレン : オリジナルメンブレンに比べ浸透圧への耐久性が高い膜は線滅菌済です。

アクセサリ

ブイ

透析カセット用の“浮き”です。繰り返し使用できます。カセットを1個取付けるタイプと一度に10個取付けることのできるカラセルブイの2種類があります。



Buoy



Carousel Buoy holding 10 Cassettes

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
532-39161	66430	Slide-A-Lyzer Buoys For 0.1-0.5ml, 0.5-3.0ml, 3.0-15ml Cassettes	10 パック	4,700
528-44091	66431	Slide-A-Lyzer Carousel Buoy For 0.1-0.5ml, 0.5-3.0ml Cassettes	1 個 (カセット10個装着可能)	7,800
521-44101	66432	Slide-A-Lyzer Buoys For 3.0-12ml Cassettes	8 パック	3,900

シリンジ

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
525-44121	66494	Slide-A-Lyzer Syringe(1ml)and 18-gauge needle	10 パック	3,900
539-39171	66490	Slide-A-Lyzer Syringe(5ml)and 18-gauge needle	10 パック	3,900
528-44111	66493	Slide-A-Lyzer Syringe(20ml)and 18-gauge needle	10 パック	4,200

Slide-A-Lyzer 透析カセットキット

透析カセットとブイ(浮き)及びシリンジがセットになっています。

試料容量 0.1 ~ 0.5ml

〔キット内容〕 透析カセット 10コ ブイ10コ
シリンジと交換針 各10コ

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
523-43941	66335	3,500	1Kit	18,300
525-44001	66375	7,000	1Kit	18,300
524-44071	66408	10,000 ¹⁾	1Kit	18,300
527-44061	66385	10,000 ²⁾ Extra-Strength	1Kit	18,300

試料容量 0.5 ~ 3.0ml

〔キット内容〕 透析カセット 10コ ブイ10コ
シリンジと交換針 各10コ

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
529-43921	66332	3,500	1Kit	20,400
521-43981	66372	7,000	1Kit	19,900
521-44081	66406	10,000 ¹⁾	1Kit	19,900
533-61681	66405		1Kit	3,900
523-44041	66382	10,000 ²⁾ Extra-Strength	1Kit	19,900

トライアルキットです。キット内容は、透析カセット、ブイ、シリンジと交換針が各1コです。

試料容量 3.0 ~ 12ml

〔キット内容〕 透析カセット 8コ ブイ8コ
シリンジと交換針 各10コ

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
522-43891	66107	3,500	1Kit	22,900
520-43951	66707	7,000	1Kit	22,900
522-44011	66807	10,000 ²⁾ Extra-Strength	1Kit	22,900

試料容量 3.0 ~ 15ml

〔キット内容〕 透析カセット 10コ ブイ10コ
シリンジと交換針 各10コ

コード No.	メーカーコード	分画分子量	容量	希望納入価格(円)
530-61691	66407	10,000 ¹⁾	1Kit	22,900



Kit

〔関連商品〕

Slide-A-Lyzer MINI Dialysis Units

10 ~ 100 μ lの微量サンプル用透析ユニットです。分画分子量は、3.5K、7K、10Kの3種類を揃えております。

HPLC 用

ワコーパック® Wakosil- 3C8RS

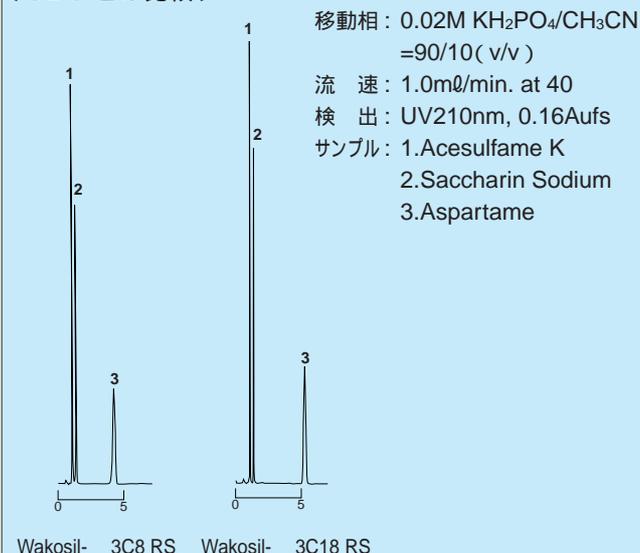
粒子径 3 μ m 高純度シリカゲルにオクチル(C8)基を導入後、残存シラノールを徹底的にエンドキャッピング処理した、短時間・高感度分析に最適な充填剤です。ODS(C18)に比べアルキル鎖が短く、極性差のある成分が短時間で分析できます。

〔特長〕

- 理論段数、分離度の向上
- 短時間分析の実現
- サンプルの微量化

カラムサイズ	カラムタイプ	希望納入価格(円)
3.0 × 75mm(ヌ)	デュボン(D)	42,000
4.0 × 100mm(ウ)		45,000
4.6 × 50mm(カ)	ウォーターズ(W)	38,000
4.6 × 150mm(G)		47,000

〔ODS との比較〕



Mallinckrodt Baker, Inc.



スピーディスクカラム用加圧プロセッサ

スピーディスクカラム用加圧プロセッサは N₂ ガスまたは圧縮空気で spe カラムに試料・脱着溶液を流す加圧方式です。この装置は「48カラム加圧プロセッサ」と「96カラム加圧プロセッサ」の2タイプがあります。両タイプとも流量の調整が容易で送液精度も高く、さらに送液に用いた同じガスで液切り、乾燥を行う事ができサンプル処理スピードが飛躍的に向上します。

〔特長〕

- スピーディスクカラムを 48 本、スピーディスク 96 カラムの 96 本を 1 度に処理
- エア加圧方式のため検体吸着後の通気脱水が容易
- 流量調整が容易でカラムの位置、数にかかわらず同量の送液が可能



スピーディスク 48 カラム加圧プロセッサ

1、3及び6mlのスピーディスクカラムを1～48個同時に処理できます。各カラムは加圧時に耐圧シールで保護されるためカラム間のコンタミネーションもありません。装置の標準仕様は3ml spe カラムが使用できるようになっています。

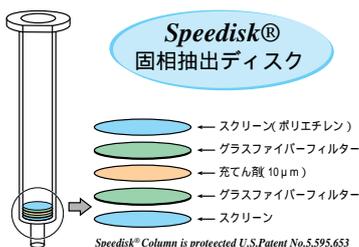
スピーディスク 96 カラム加圧プロセッサ

スピーディスク 96 カラム専用の加圧プロセッサです。本装置は、8 × 12 のマイクロプレートに合わせて設置された 96 個すべてのカラムへ同時に同量の送液を行うことができます。

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
560-26051	8118-00	スピーディスク 48 カラム加圧プロセッサ	1 式	480,000
567-26061	8129-00	スピーディスク 96 カラム加圧プロセッサ	1 式	450,000

スピーディスクカラム

- 高回収率 / 高再現性 / 高キャパシティー
- 使用溶媒量(溶出等)が少ない
- 10 μ m ディスク状で目詰まり等が少なく短時間抽出が可能



スピーディスク 96 カラム

- ハイスループット固相抽出に最適
- リムレス形状の 20mg スピーディスクカラム 96 本が 1 セット
- C18, シリカゲル等 20 品種



* 加圧プロセッサの詳しい資料や新構造ディスクを使用したスピーディスク spe カラムのパフレットを用意しております。ご請求下さい。

DPD 法による残留塩素の測定

飲料水、プール水には殺菌、消毒の目的で塩素剤が使用されています。塩素剤は水中で次亜塩素酸として消毒作用を発揮しますが、水中の懸濁物、有機物、金属塩等と反応したり、大気中に逸散するなどしてその濃度が減少し殺菌効果が低下します。したがって、衛生管理面から水中残留塩素の測定が行われています。

現在、残留塩素の測定は *o*-トリジン法が主流となっておりますが、*o*-トリジンの発がん性が指摘され、DPD 法が注目されています。DPD 法は、残留塩素がジエチル-*p*-フェニレンジアミン(DPD)と反応して呈する桃～桃赤色を標準比色液と比較して残留塩素を測定する方法です。

〔DPD 法〕

(1) 遊離残留塩素の測定(Clmg/l)

りん酸緩衝液2.5mlを共栓比色管50mlに採る

DPD試薬0.5gを加える

検水を加えて全量を50mlとし、混和する

呈色を残留塩素標準比色列と比較する

(2) 残留塩素の測定(Clmg/l)

(1)で発色させた溶液によう化カリウム0.5gを加える

混和後、約2分間静置する

呈色を残留塩素標準比色列と比較する

(3) 結合残留塩素(Clmg/l)

残留塩素と遊離残留塩素の差を結合残留塩素とする

〔参考文献〕

厚生省生活衛生局 水道環境部 監修:「上水試験法」, p.210, (日本水道協会 1993)

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
042-27642	<i>N,N</i> -Diethyl- <i>p</i> -phenylenediamine Sulfate 【DPD】	残留塩素測定用	25g	6,000
015-18241	Acid Red 265	残留塩素測定用	1g	2,500
161-20185	Phosphate Buffer Solution	残留塩素測定用	500ml	照 会
042-28002	DPD Reagent	残留塩素測定用	25g	照 会
044-28001	内容量: DPD 4% 無水硫酸ナトリウム 96%		100g	照 会

DPD 法による簡易測定キット

活性塩素-DPD テストワコー

〔特 長〕

操作が簡便

- 1) DPD, KI は、錠剤の採用により秤量の必要がありません。
- 2) 緩衝液は、滴瓶に濃縮液が入っており、滴下するだけです。
- 3) 測定は、目視により色調表と比較するだけです。

1本の試験管で測定可能

- 1) 遊離残留塩素も結合残留塩素も1本の試験管で測定できます。

〔内 容〕

- (1) DPD 錠 100錠 × 1本
(*N,N*-ジエチル-*p*-フェニレンジアミン(硫酸塩) 0.002g
無水硫酸ナトリウム 0.048g)
- (2) KI 錠 (よう化カリウム 0.05g) 100錠 × 1本
- (3) りん酸緩衝液 (0.2mol/l, pH 6.5) 8ml × 1本
- (4) 色調表 1枚

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
297-56501	Active Cl-DPD test <i>wako</i>	残留塩素測定用	100回用	8,500
294-34151	Active Cl-DPD test tube (Active Cl-DPD test <i>wako</i> 用試験管)	残留塩素測定用	5本(栓付き)	3,800

残留農薬試験(HPLC)用 7種農薬混合標準液

水質基準、ゴルフ場使用農薬目標基準値などが設定されている7種農薬混合標準液です。「水道水質に関する基準の制定について」の一部改正(厚生省生活衛生局水道環境部長通知;平成11年6月29日付生衛発第959号)に伴い、水質基準を補完する項目として追加された、ベンタゾン、カルボフラン、2,4-PA(2,4-ジクロロフェノキシ酢酸)、トリクロピルを含みます。

また、ワコーパック® WS Agri-9 HPLC専用カラム)を用いることで、オキシシン銅を加えた8成分の一斉分析が可能であり、固相抽出カラムプレセップ®-C Agri(Short) [スチレンジビニルベンゼン-メタクリレート系ポリマーゲル]により、前処理も容易に行えます。

〔Presep®-C Agri 回収率〕

農薬名	回収率	
アシラム	96.3	95.4
ベンタゾン	97.1	97.4
カルボフラン	98.1	102.1
MCPP	98.9	99.8
2,4-PA	99.5	101.6
チウラム	93.9	96.6
トリクロピル	98.2	101.7
オキシシン銅	94.2	97.2

〔現品説明書〕

コードNo. 164-19901

7種農薬混合標準液

7 Pesticides Mixed Standard Solution

【内容】

アシラム
ベンタゾン
カルボフラン
MCPP(メコプロップ)
2,4-PA(2,4-ジクロロフェノキシ酢酸, 2,4-D)
チウラム
トリクロピル(トリクロピル酸)
各100µg/mlアセトニトリル溶液

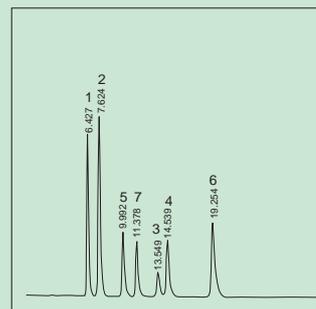
【保存条件】

-20℃ 避光保存

【ご使用上の注意】

- 2-10℃ 保存下では徐々に分解しますので、必ず上記保存条件にて保存して下さい。
- 希釈後の溶液は室温で徐々に分解します。
- 希釈後の溶液を保存する場合は2-10℃ で保存し、なるべく早くご使用下さい。
- 希釈に用いる溶媒は、高純度の分析用グレードをご使用下さい。
- アンブル中には約1.5ml入っています。

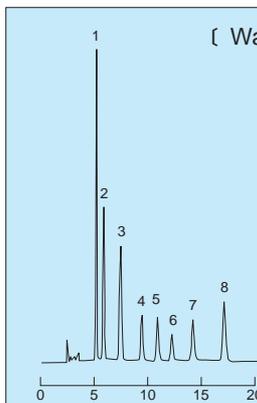
参考のため、本品の液体クロマトグラムを示します。



LIQUID CHROMATOGRAM

Sample	7種農薬混合標準液 本品 10µl注入	Column	Wakosil Agri-9 (4.6 x 250mm) 35
Lot.	HCR9509	Eluent	CH ₃ CN:pH3.6 50mM KH ₂ PO ₄ :H ₃ PO ₄ =28/72 Add. EDTA·2Na 0.01%
Flow rate	1.0ml/min	Detection	UV 270-230nm
Atten	8	Operator	S. Nakao
Instrument	Shimadzu LC 9A	WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.	

〔Wakosil Agri-9 によるオキシシン銅を加えた 8種農薬の一斉分析例〕



HPLC Conditions

Column : Wakosil Agri-9 4.6 x 250mm
Eluent : CH₃CN/pH 3.6 50mM KH₂PO₄, H₃PO₄
=28/72 (v/v) add. EDTA · 2Na 0.01%
Flow rate : 1.0ml/min. at 35
Detection : 0-5.3min. UV240nm,
5.3-6.5min. UV270nm,
6.5min.- UV230nm, 0.128Aufs
Sample : 1) Oxine-Cu 2) Asulam 3) Bentazone
4) 2,4-PA 5) Triclopyr 6) Carbofuran
7) MCPP 8) Thiuram inj. vol. 10µg/ml, 10µl

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
164-19901	7種農薬混合標準液	残留農薬試験用	1ml x 5A	25,000
159-01961	オキシシン銅標準液	残留農薬試験用	1ml x 5A	10,000
001-00030	Wakopak® WS Agri-9 (4.6 x 250mm)	残留農薬試験用	1本	74,000
296-32651	Presep®-C Agri(Short)	試料前処理用	10個 x 5	38,000

その他、4,8,13,32種農薬混合標準液もございますのでお問合せ下さい。

高速液体クロマトグラフ用標準品

第十三改正日本薬局方では、液体クロマトグラフ法にて各種の医薬品を定量する際に内部標準物質としてパラオキシ安息香酸エステル類やエチレフリン等が使用されます。

また、パラオキシ安息香酸エステル類は、飲食物に保存料として使用されており HPLC 法にて分析が行われています。

コード No.	品名	略名	含量(HPLC)	容量	希望納入価格(円)
021-14241	Butyl p-Hydroxybenzoate Standard	PHBA Butyl	99.0%以上	200mg	5,000
050-06801	Ethyl p-Hydroxybenzoate Standard	PHBA Ethyl	99.0%以上	200mg	5,000
164-20011	Propyl p-Hydroxybenzoate Standard	PHBA Propyl	99.0%以上	200mg	5,000
057-06791	Etilerfrine Hydrochloride Standard	—	98.0%以上	200mg	5,000

3L 包装追加!

ダイオキシシン類分析用溶媒
エタノール

056-06663 3ℓ 13,000円

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
010-17831	アセトン	1ℓ	2,900
048-26321	ジクロロメタン	1ℓ	3,500
049-27451	ジエチルエーテル	1ℓ	6,200
050-06661	エタノール	1ℓ	5,000
083-07391	ヘキサン(n-)	1ℓ	2,400
136-13461	メタノール	1ℓ	2,800
203-14141	トルエン	1ℓ	3,300

8 Phthalates Mixed Standard Solution

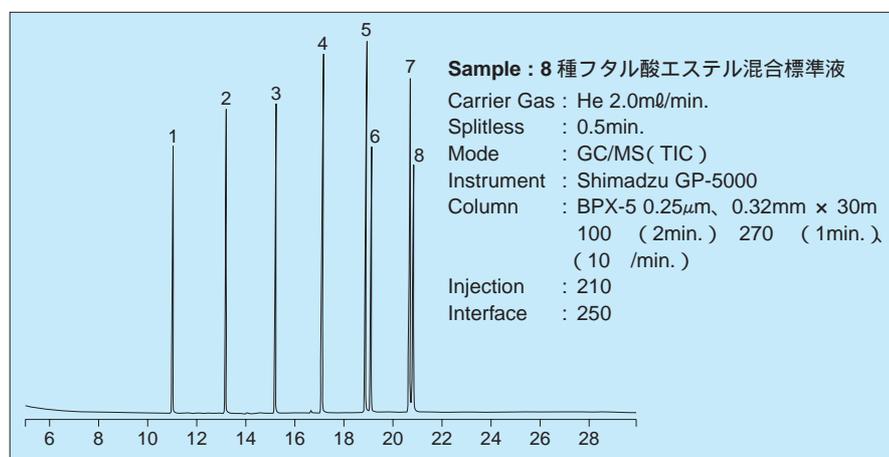
フタル酸エステル試験用

環境庁「SPEED98」に記載されている、8種類のフタル酸エステル類の混合標準液です。

〔内容〕

ピーク No.	成分名	分子式	CAS No.
1	フタル酸ジエチル	$C_6H_4(COOC_2H_5)_2$	84-66-2
2	フタル酸ジプロピル	$C_6H_4(COOCH_2CH_2CH_3)_2$	131-16-8
3	フタル酸ジ- <i>n</i> -ブチル	$C_6H_4[COO(CH_2)_3CH_3]_2$	84-74-2
4	フタル酸ジ- <i>n</i> -ペンチル	$C_6H_4[COO(CH_2)_4CH_3]_2$	131-18-0
5	フタル酸ジ- <i>n</i> -ヘキシル	$C_6H_4[COO(CH_2)_5CH_3]_2$	84-75-3
6	フタル酸ベンジルブチル	$C_6H_4(COOCH_2C_6H_5)(COO(CH_2)_3CH_3)$	85-68-7
7	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)	$C_6H_4[COOCH_2CH(C_2H_5)(CH_2)_3CH_3]_2$	117-81-7
8	フタル酸ジシクロヘキシル	$C_{20}H_{26}O_4$	84-61-7

各 100 μ g/ml ヘキサン溶液



〔参考文献〕

- 1) 環境庁「環境ホルモン戦略計画 SPEED98」1998年5月
- 2) 第26回日本環境化学会講演予稿集 (平成10年10月29日)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
165-19931	8 Phthalates Mixed Standard Solution (each 100 μ g/ml in Hexane)	フタル酸エステル試験用	1ml x 5	20,000

〔関連商品〕

標準品及びサロゲートも各種取扱っております。別途資料をご請求下さい。

アフラトキシン標準品セット

生化学用

アフラトキシンは *Aspergillus flavus* により生産されるカビ毒であり強力な発がん作用を持つ物質です。これらは特有の蛍光を発しその色によりアフラトキシン B(青)、G(緑)と区別されています。

またそれぞれ2種類のサブタイプが知られており、本品は各1mgのバイアルが1本ずつ入ったお得な標準品のセットです。また単品もご用意しています。食品中のアフラトキシンの定量や発がん物質の作用機構などの解明に使用下さい。

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
012-18371	Aflatoxin (B1,B2,G1,G2) Set	4 x 1mg	20,000

〔関連商品〕

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
019-17661	Aflatoxin B1	10mg	17,000
016-17671	Aflatoxin B2	10mg	36,000
013-17681	Aflatoxin G1	10mg	30,000
010-17691	Aflatoxin G2	10mg	58,000
018-18351	Aflatoxin M1	100 μ g	30,000
150-02111	Ochratoxin A	5mg	38,000

5% 含水シリカゲルの商品化と性能評価結果

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として「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質及び生物)」を発表した。この暫定マニュアルには試料の前処理を目的として、溶媒抽出法、固相抽出法、カラム処理法など様々な前処理法が紹介されているが、カラム処理法には、主に5% 含水シリカゲル、5% 含水フロリジルが用いられている。特に5% 含水シリカゲルは、HCB、PAHs等の非極性物質から農薬等の極性物質までを多成分分析するのに適しているが¹⁾⁻³⁾、これら担体の調製には、市販カラムクロマトグラフ用担体を購入後、乾燥と水分の調製操作が必要となっている。今回商品化した5% 含水シリカゲルは、これらの手間を省き分析時にすぐ使用できるように含水率を5%に調製したWakogel C-200である。

〔5% 含水シリカゲルの調製方法〕

当社カラムクロマトグラフ用シリカゲル Wakogel C-200を130で15時間乾燥後、密閉式ステンレス製混合機に入れて室温まで冷却する。攪拌しながらシリカゲル重量に対し5%重量の精製水を滴下し、密封して発熱が終了するまで静かに混合する。さらに30分間混合後15時間以上静置し調製した。

表. 5%含水シリカゲルの評価結果

塩素系農薬	Hexanae 0-30ml		1%Acetone-Hexane 0-50ml		1%Acetone-Hexane 50-100ml		5%Acetone-Hexane 0-50ml		10%Acetone-Hexane 0-50ml		5%EtOH-Benzene 0-50ml	
	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品
4-Nitrotoluene	-	-	-	-	91	96	-	-	-	-	-	-
Benzophenon	-	-	-	-	98	99	-	-	-	-	-	-
-HCH	-	-	90	95	14	12	-	-	-	-	-	-
-HCH	-	-	-	-	94	99	-	-	-	-	-	-
-HCH	-	-	-	-	93	96	-	-	-	-	-	-
-HCH	-	-	-	-	79	91	13	6	-	-	-	-
HCB	103	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlordene	94	98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alachlor	-	-	-	-	-	-	96	106	-	-	-	-
Heptachlor	94	99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldrin	106	98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Octachlorostylene	103	99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxychlordane	-	-	94	89	8	5	-	-	-	-	-	-
Heptachlor-exo-epoxi	-	-	6	6	95	92	-	-	-	-	-	-
Heptachlor-end-epoxi	-	-	-	-	95	100	-	-	-	-	-	-
2,4,8-TCDF	104	98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-Chlordane	-	-	104	104	-	-	-	-	-	-	-	-
o,p'-DDE	98	94	6	3	-	-	-	-	-	-	-	-
cis-Chlordane	-	-	105	103	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-Nonachlor	-	-	100	99	-	-	-	-	-	-	-	-
-Endsulfan	-	-	49	51	68	58	-	-	-	-	-	-
p,p'-DDE	101	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dieldrin	-	-	-	-	101	110	-	-	-	-	-	-
o,p'-DDD	13	12	91	84	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrofen(NIP)	-	-	8	12	140	75	-	-	-	-	-	-
Endrin	-	-	-	-	99	95	-	-	-	-	-	-
-Endsulfon	-	-	-	-	20	19	90	84	-	-	-	-
cis-Nonachlor	-	-	82	80	22	19	-	-	-	-	-	-
p,p'-DDD	-	-	111	107	-	-	-	-	-	-	-	-
o,p'-DDT	93	92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p,p'-DDT	21	16	54	53	-	-	-	-	-	-	-	-
Endsulfan Sulfate	-	-	-	-	-	-	98	81	26	18	-	-
Methoxychlor	-	-	-	-	81	100	-	-	-	-	-	-
Kelthane(Dicofo)	-	-	-	-	64	102	-	-	-	-	-	-
Mirex	99	92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[a]pyrene	-	-	95	92	-	-	-	-	-	-	-	-
農薬類												
	Hexanae 0-30ml		1%Acetone-Hexane 0-50ml		1%Acetone-Hexane 50-100ml		5%Acetone-Hexane 0-50ml		10%Acetone-Hexane 0-50ml		5%EtOH-Benzene 0-50ml	
	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品	自家製	和光品
Trifluralin	-	-	-	-	98	98	-	-	-	-	-	-
Simazine	-	-	-	-	-	-	-	-	131	135	-	-
Atrazine	-	-	-	-	-	-	-	-	120	127	-	-
Carbaryl	-	-	-	-	-	-	-	-	133	101	-	-
Metribuzin	-	-	-	-	-	-	-	-	134	142	-	-
Vinclozolin	-	-	-	-	87	103	-	-	-	-	-	-
Malathion	-	-	-	-	-	-	108	101	-	-	-	-
Parathion	-	-	-	-	69	100	-	-	-	-	-	-
cis-Permethrin	-	-	-	-	92	112	-	-	-	-	-	-
trans-Permethrin	-	-	-	-	87	112	-	-	-	-	-	-
Cypermethrin-1	-	-	-	-	69	107	-	-	-	-	-	-
Cypermethrin-2	-	-	-	-	94	101	14	2	-	-	-	-
Cypermethrin-3	-	-	-	-	67	96	35	4	-	-	-	-
Cypermethrin-4	-	-	-	-	65	112	28	4	-	-	-	-
Fenvalerate	-	-	-	-	104	107	-	-	-	-	-	-
Esfenvalerate	-	-	-	-	90	109	-	-	-	-	-	-

(注) 標準品の添加量を100とした場合の回収率で表記
 5% 含水シリカゲルの使用量:5g(内径1cmのガラスカラム)
 自家製:岡山県環境保健センター 飼持様より供与された5% 含水シリカゲル 和光品:当社で商品化5% 含水シリカゲル

〔性能評価結果〕

本製品の性能評価結果を表にまとめて示したが、従来の自家製シリカゲルと同等の分離特性を示し、本製品が環境ホルモン分析の迅速化に貢献できると考えられる。

〔参考文献〕

- 1) 飼持志他: ゴルフ場農薬の分析法: 環境化学, 3, 41-58(1993)
- 2) 飼持志他: 水質、底質モニタリング調査の分析方法, 環境化学, 3, 279-293(1993)
- 3) 環境庁環境安全課: 平成10年度化学物質分析法開発調査報告書(その2): 多環芳香族炭化水素類(PAHs)及び有機リン酸トリエステル類(OPEs)の分析法(2000)

環境ホルモン分析の前処理に！

5 % Water-impregnated Silica Gel【Silica Gel water content 5 %】

環境分析用

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
239-01711	5%含水シリカゲル	環境分析用	100g	4,000

環境分析用溶媒 シリーズ追加！

Dichloromethane

Diethyl Ether

環境分析用

ご好評頂いている環境分析用溶媒に今回新たに、ジクロロメタン、ジエチルエーテルを追加しました。内分泌攪乱物質類の分析に安心してお使い頂けます。

〔規格〕

内分泌攪乱物質分析適合性試験*：適合

*高分解能GC/MSを用いて、フタル酸エステル類、アジピン酸2-エチルヘキシル、アルキルフェノール類、ビスフェノールA、スチレンダイマー・トリマー等の内分泌攪乱物質を測定し、ほとんど存在しない事を確認。また、1,000倍濃縮を行い、GC-ECDでハロゲン化有機物がない事を確認。

〔取扱上の注意〕

本品はアルミキャップを使用しておりますが、お取扱いの際は以下の点に注意してお使い下さい。

1. 栓の開閉によっても外気で汚染されるおそれがありますので、開栓後はできるだけ早く全量をご使用下さい。
2. 本品の流出箇所を手で触れますと、汚染の原因になります。
3. 器具はすべてガラス器具を使用して下さい。ポリエチレン、ポリ塩化ビニルのようなプラスチック材質はすべて極微量の溶出成分含有のため汚染の原因になります。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
041-28055	Dichloromethane	環境分析用	500ml	2,600
048-28065	Diethyl Ether	環境分析用	500ml	4,200

〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-17815	Acetone	環境分析用	500ml	1,900
015-17825	Acetonitrile	環境分析用	500ml	2,600
085-07655	n-Hexane	環境分析用	500ml	1,800

ビスフェノールAのGC分析に！

N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide【BSTFA】

環境分析用

「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」(平成10年10月環境庁発行)には、ビスフェノールAのGC分析にはBSTFAで誘導化する方法が示されています。

本品は、試薬中に含まれるビスフェノールAがほとんどないことを確認しています。

〔取扱上の注意〕

ビスフェノールAを分析される場合は、GC導入口を新しいものに取替えたり、シリンジも針の交換できるタイプのものを使用するなど、測定環境からのビスフェノールAの汚染を極力排除して行って下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
020-14191	N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroaceticamide	環境分析用	1ml × 5A	8,000

DNPH アルデヒド分析をスムーズに !!

16 種アルデヒド-DNPH 混合標準液 ワコーパック® WS DNPH、専用溶離液

有害大気汚染物質として環境中に広く存在するアルデヒド類の 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)誘導体 16 成分の混合標準液です。

ワコーパック® WS DNPH (HPLC 専用カラム) と専用溶離液による一斉分析が可能であり、従来の HPLC カラムでは分離できなかった、DNPH-*n*-ブチルアルデヒドと DNPH-*n*-プロピルアルデヒドを分離分析できます。

〔成分〕 濃度:各アルデヒド 10 μ g/ml アセトニトリル溶液

化合物名	濃度 (μ g/ml) [アルデヒド-DNPHとして]	示性式	分子量
ホルムアルデヒド-DNPH 誘導体	70.0	$\text{CH}_2=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	210.15
アセトアルデヒド DNPH 誘導体	50.9	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	224.17
プロピオンアルデヒド DNPH 誘導体	41.0	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	238.20
アクロレイン DNPH 誘導体	40.0	$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	236.18
アセトン DNPH 誘導体	39.0	$(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	238.20
イソブチルアルデヒド DNPH 誘導体	35.0	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	252.23
<i>n</i> -ブチルアルデヒド DNPH 誘導体	35.0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	252.23
クロトンアルデヒド DNPH 誘導体	35.7	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	250.21
イソ吉草酸アルデヒド DNPH 誘導体	30.9	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	266.25
<i>n</i> -吉草酸アルデヒド DNPH 誘導体	30.9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	266.25
ベンズアルデヒド DNPH 誘導体	27.0	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	286.24
<i>n</i> -ヘキサナル DNPH 誘導体	28.0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	280.28
<i>o</i> -トルアルデヒド DNPH 誘導体	25.0	$\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	300.27
<i>m</i> -トルアルデヒド DNPH 誘導体	25.0	$\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	300.27
<i>p</i> -トルアルデヒド DNPH 誘導体	25.0	$\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	300.27
2,5-ジメチルベンズアルデヒド DNPH 誘導体	23.4	$(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}=\text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	314.30

極めて低いカートリッジブランク プレセップ®-C DNPH

プレセップ®-C DNPH は 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをシリカゲルにコーティングした固相抽出用カートリッジです。大気環境中のカルボニル化合物を DNPH 誘導体として捕集す

ることに優れています。

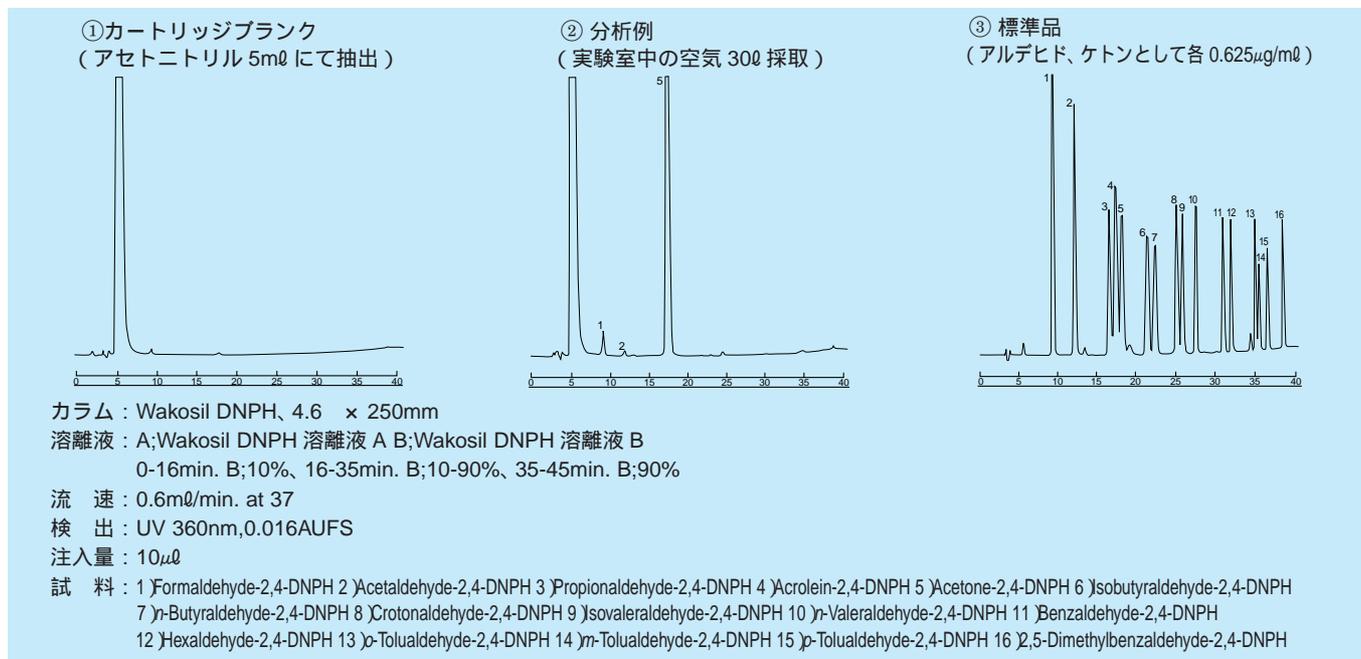
〔仕様〕

粒子径: 75 ~ 150 μ m

細孔径: 7.0nm

比表面積: 450m²/g

DNPH 量: 約 2mg/個



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
018-18231	16 種アルデヒド-DNPH 混合標準液	HPLC 用	1ml × 5	30,000
290-34251	Presep®-C DNPH	試料前処理用	20 個	照会

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格 (円)
ワコーパック® WS DNPH	4.6 × 250mm	デュボン	オ ID	65,000
		ウォーターズ	オ IW	

〔次頁下へ続く〕

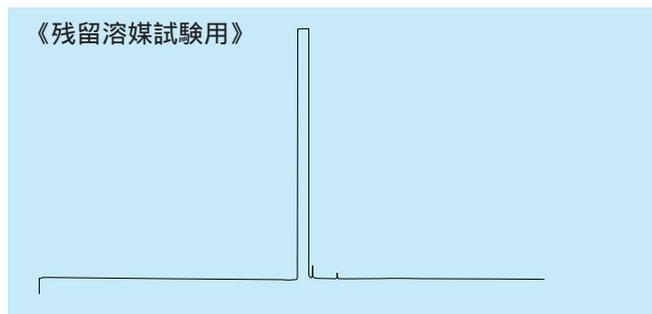
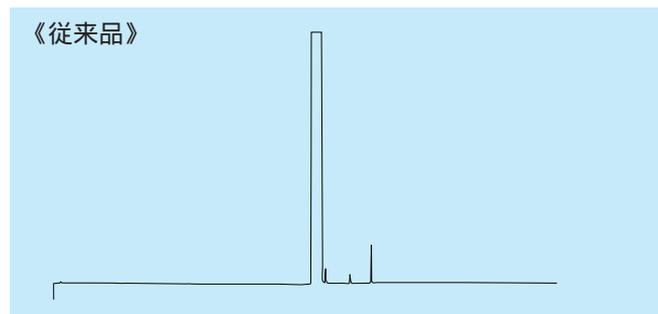
残留溶媒試験用 高純度溶媒

第十三改正日本薬局方第二追補において「残留溶媒試験法」が一般試験法に新たに追加されました。この試験法は、患者の安全のために「医薬品の残留溶媒ガイドライン」により勧告された残留溶媒の許容量を遵守するため、ガスクロマトグラフ法により薬品中に残留する有機溶媒の量を測定する方法です。

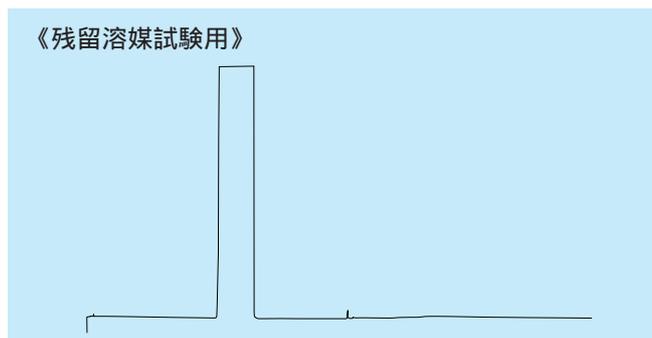
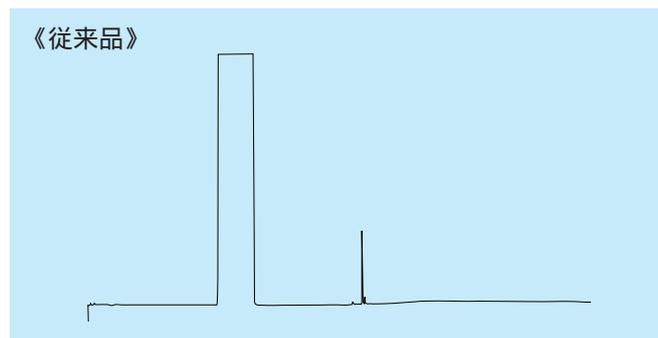
この度当社では、ガスクロマトグラフ法で他の有機溶媒をほとんど認めない、高純度溶媒を商品化しました。「残留溶媒試験」に安心してお使い頂けます。

当社従来品との比較 cGC チャート

ジメチルスルホキシド



N,N-ジメチルホルムアミド



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
045-27595	ジメチルスルホキシド	残留溶媒試験用	500ml	9,000
043-27591			3ℓ	36,000
048-27585	N,N-ジメチルホルムアミド	残留溶媒試験用	500ml	8,000

〔関連商品〕

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
308-04771	住友精密 VOC 測定用水	300ml × 6	9,700

〔前頁より〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
233-01611	ワコーシル DNPH 溶離液 A	HPLC 用	1ℓ	5,000
230-01621	ワコーシル DNPH 溶離液 B	HPLC 用	1ℓ	1,200

〔関連商品〕

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-17741	アセトニトリル	アルデヒド分析用	200ml	4,000
062-03481	ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準液 (40μg HCHO/ml in acetonitrile)	排ガス分析(HPLC)用	2ml × 5	10,500
012-17391	2種アルデヒド DNPH 混合標準液 (ホルムアルデヒド-DNPH, アセトアルデヒド-DNPH, 各アルデヒドとして 0.1μg/μℓ in acetonitrile)	大気汚染物質測定(HPLC)用	2ml × 5	12,000
012-15451	6種アルデヒド化合物混合標準液 (アセトアルデヒド-DNPH, プロピオンアルデヒド-DNPH, ホルムアルデヒド-DNPH, イソブチルアルデヒド-DNPH, n-吉草酸アルデヒド-DNPH, イソ吉草酸アルデヒド-DNPH, 各アルデヒドとして 0.1μg/μℓ in acetonitrile)	悪臭物質試験(HPLC)用	2ml × 5	15,700

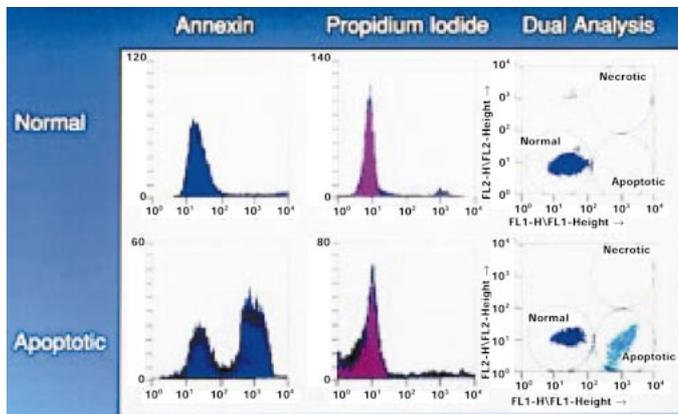
細胞レベルでのアポトーシス検出、定量キット

Annexin V-Fluorescein Staining Kit

アポトーシス研究用

正常では細胞膜の内側に存在するホスファチジルセリン(PS)は、アポトーシスの初期段階で膜側に反転することが知られています。そのためCa²⁺の存在下でPSと特異的に結合するアネキシンVにより早期のアポトーシスを確認できます。本品は蛍光色素を標識したアネキシンVにより反転したPSを検出すると共に、核DNAをヨウ化プロピジウムで二重染色することにより初期段階のアポトーシスとネクローシスを容易に区別するキットです。

〔使用例〕



カンプトテシン処理でアポトーシス誘導したU937細胞のFACS分析 (上段:カンプトテシン未処理 下段:カンプトテシン4時間処理)

〔キット内容〕

Annexin V-Fluorescein	110 μ l
Propidium Iodide	150 μ l
Binding Buffer	50ml

297-55901 50回用 40,000円

〔関連商品〕

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-16841	Annexin V-FITC	生化学用	100 μ g	45,000
160-16723	Propidium Iodide	生化学用	10mg	3,000
168-16724			25mg	4,900
164-16721			100mg	13,600

Anti Rat iNOS, Monoclonal Antibody

免疫化学用

iNOS(誘導型NO合成酵素)は、サイトカインや細菌のLPS等の刺激で発現誘導され、NOを発生させます。大量に産生したNOは細菌の感染防御に働くのみならず、炎症、自己免疫疾患などを誘起させると考えられています。

免疫原:ラットNOS

形状:凍結乾燥品(水1mlに溶解させた場合、2 μ g/ml)

精製法:プロテインG精製

クローンNo.:A2

サブクラス:IgG₁

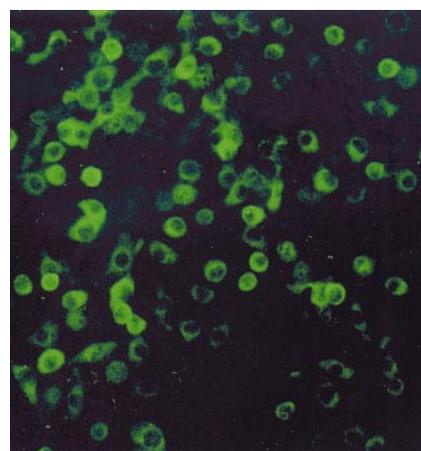
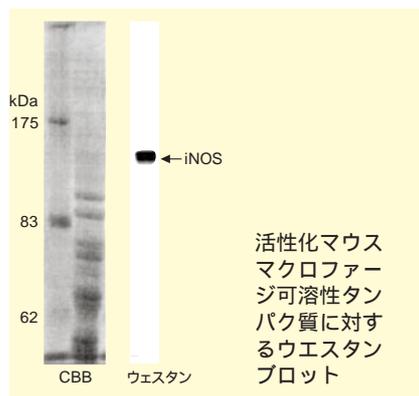
特異性:ラット、マウスiNOSと反応する。

実用希釈倍数:

ウエスタンブロット

1:1,000 ~ 1:3,000

免疫蛍光染色 未希釈



活性化マクロファージRAW246.7の免疫染色

012-18631 1ml用 30,000円

Anti Rat iNOS Peptide, Rabbit

免疫化学用

特異性:ラット、マウスiNOSを認識する

用途:ウエスタンブロット 1:800(2.5 μ g/ml)

015-18621 500 μ l 20,000円

Anti Rat nNOS, Monoclonal Antibody

免疫化学用

特異性:ラットnNOSを認識する

用途:ウエスタンブロット(0.4 μ g/ml)免疫染色(4 μ g/ml)

019-18641 1ml用 30,000円

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7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