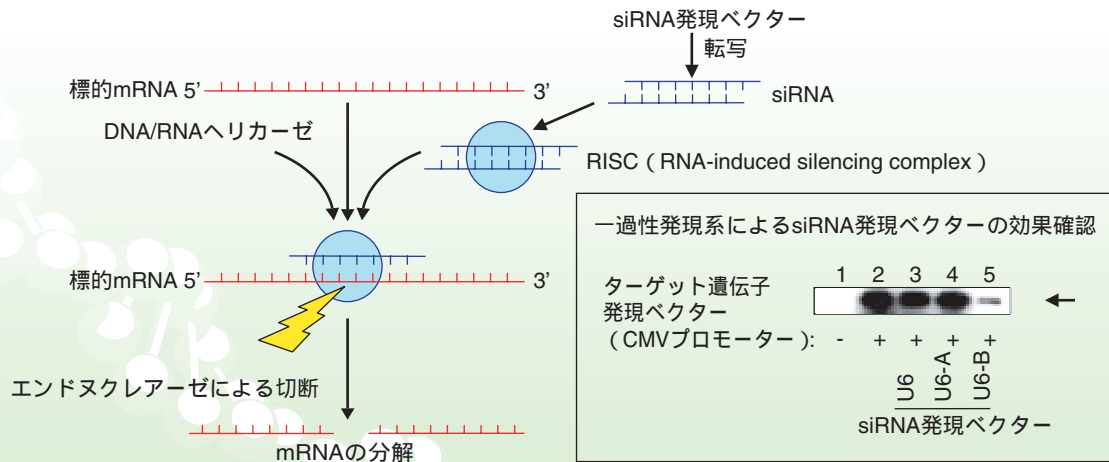


# 和光純薬時報

April 2003  
Vol.71 No.2



## siRNAによる標的mRNA分解機構

発現ベクターにより転写されたsiRNAは、プロセッシングを受けた後、siRNAに特異的な蛋白と結合し、RISC (RNA-induced silencing complex)となる。この複合体がsiRNAと相同配列をもつ標的mRNAを認識・結合し、エンドヌクレアーゼ活性により標的mRNAが分解され、標的遺伝子の発現抑制がおこる(挿入図に関しては本文参照のこと)。

## 〔総説〕

- 「siRNA発現ベクター作製と転写シークエンス」  
阪上 浩 .....2
- 「拓かれるユビキチン - プロテアソームシステムの世界」  
森本 充、田中弘文 .....5
- 「腎クリアランス測定法とイヌリン注射液」  
青山隆夫、伊賀立二 .....8
- 「位置選択的ラジカル環化反応」  
石橋弘行 .....14
- 「次世代型キラル相間移動触媒のデザイン」  
丸岡啓二 .....16

- 「第5次総量規制と全室素・全りん自動測定装置」  
林 陽子 .....19
- <Talking of LAL>  
「第51話 トキシノメーターの応用」 土谷正和 .....11
- <脳科学一口メモ>  
「意思決定への前頭前野内側部5-HT及び身体反応の関与」  
野村理朗 .....12
- <テクニカルレポート>  
「Presep®-C DNPシヨートタイプの開発」  
久保田守 .....22

## 〔化学大家〕

- 「ジェームズ・ブライアント・コナント」 島尾永康 .....28

## 〔製品紹介〕

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <p><b>有機合成</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Synchem社 ビルディングブロック製品 .....13</li> <li>Quanta Biodesigne社 PEG標識試薬 .....13</li> <li>ジフェニル(2,2,2-トリフルオロエチル)ホスフィンオキド .....15</li> <li>2,2'-アゾビス(イソブチロニトリル) .....15</li> <li>光学活性相間移動触媒 .....18</li> </ul> <p><b>環境</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>全室素・全りん測定装置専用試薬 .....21</li> <li>ダイオキシン類分析用プレセップ® .....23</li> <li>多層シリカゲル .....23</li> <li>アルデヒド分析用カラム .....23</li> </ul> | <p>COD測定試薬 .....24</p> <p>環境分析用5w/v%食塩水 .....24</p> <p><b>クロマト</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>シリカゲル70PF<sub>254</sub>プレートワコー .....24</li> </ul> <p><b>金属石けん</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>超微粒金属石けん .....23</li> </ul> <p><b>糖尿病</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ラットGLP-1 ELISAキットワコー .....25</li> </ul> <p><b>タンパク質分解</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ユビキチン - プロテアソーム関連試薬 .....7</li> </ul> <p><b>腎機能評価</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>イヌリン溶液(低分子量分画) .....10</li> </ul> | <p><b>電気泳動</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>スーパーセップ™ .....32</li> </ul> <p><b>遺伝子</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>DNA受託シークエンスサービス .....4</li> <li>(株)ニッポンジーンテック</li> <li>CUGA®シークエンシングキット .....4</li> <li>RNaseバスター .....25</li> </ul> <p><b>機器</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>サイボックス(株) レーザートラップ<br/>生細胞分離システム .....26</li> </ul> |
|---|---|---|

## 〔お知らせ〕

- カタログ発行のご案内 .....27

### 1 はじめに

ヒトゲノム配列のドラフトが記載され、ヒトの基本的な遺伝情報が明らかとされたが、機能の明らかでない遺伝子もまだ多く、半数近くの遺伝子は機能分類さえもされていない。「ポストゲノム時代」のもっとも大きな目標は、網羅的かつ体系的に遺伝子の機能を解析することであろう。そのためには効率よく目的の遺伝子の機能を阻害する方法が必要であるが、21塩基から23塩基の短い二本鎖RNA( siRNA )を発現するベクターを構築し、これを哺乳動物細胞に導入することで、特定の遺伝子のみを発現を抑制させることが昨年相次いで報告され、哺乳動物細胞におけるsiRNA発現ベクターを用いた遺伝子機能解析法が注目されている。本稿では、我々が用いているsiRNA発現ベクター構築法を中心に、その問題点を含め概説する。

### 2 RNA interferenceとsiRNA

RNA interference( RNAi, RNA干渉 )とは、二本鎖RNAが対応する遺伝子の発現を特異的に抑制する現象であるが、植物のある遺伝子の発現を抑制する現象として記載されたのが始まりで、1998年線虫のアンチセンスRNAの研究過程で、その本体が明らかとされ一挙に注目されるに至った<sup>1)</sup>。C.elegansでは、その全ての遺伝子をRNAiで破壊するプロジェクトも報告され、網羅的かつ体系的にC.elegansの遺伝子の機能を解析することが可能となっている。1998年以降、哺乳動物細胞に二本鎖RNAを導入して特定の遺伝子のみをノックダウンさせる試みがなされたが、その多くはほとんど効果がなく、初期胚などで有効であったと報告されたにすぎなかった。しかしTuschl博士らが*in vitro*で二本鎖RNAが21塩基から23塩基の短い二本鎖RNA( siRNA )に分解され、それをガイド役にターゲットのmRNAが21塩基から23塩基に分解されることを見出し、最終的にはsiRNAを細胞に導入することで、哺乳動物細胞でも二本鎖RNAが有効に働くことを2001年報告した<sup>2)</sup>。しかし多くの哺乳動物細胞に合成したsiRNAを高効率に導入させることは不可能で、かつその効果の持続

時間が短いのが問題であった。この問題は発現ベクターを用いて細胞内でsiRNAを発現させることにより解決できうることを多比良和誠博士らのグループをはじめとして幾つかのグループが2002年に報告した<sup>3)</sup>。これによりsiRNAによる遺伝子ノックダウン法が哺乳動物細胞での遺伝子機能解析法として有効に利用しうる状況になったと考えられ、多比良和誠博士らの功績は大きい。

### 3 siRNA発現ベクターを用いた遺伝子機能解析法のストラテジー ( 図1 )

図1に現在、我々が用いているsiRNA発現ベクター構築のストラテジーをまとめる。

まずノックダウンにより機能解析を試みる遺伝子が決定されたならば、2次構造を考慮しながらsiRNA配列を決定する。siRNA配列の決定法は、紙面の関係上割愛させていただくが、有料だがその配列を決定してくれる業者も幾つか存在するし、また宮岸真博士、多比良和誠博士が書かれたプロトコル<sup>4)</sup>にも詳しく書かれているので参照されたい。ここで重要なのは図2にあるようにターゲット遺伝子のmRNAの2次構造である。例えばsiRNA-Aは強い2次構造をとる部位をターゲットとするが、siRNA-BはmRNAの構造が開いている部位をターゲットとする。後述( 図3 )するようにsiRNA-Aは全く効果がなく、siRNA-Bは非常に有効であったことから、候補となるsiRNAを選び出

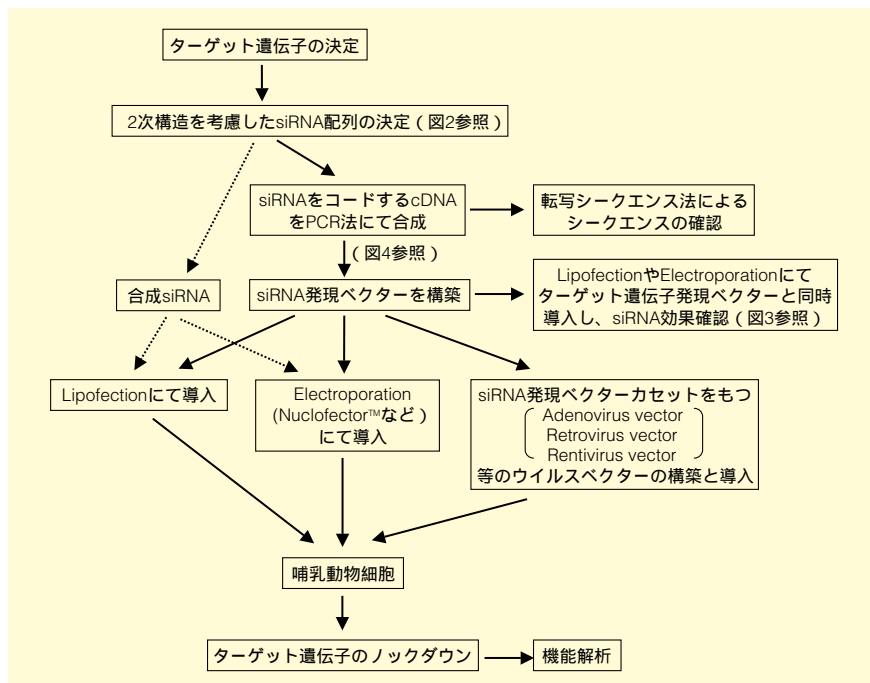


図1. 哺乳動物細胞におけるsiRNA発現ベクター遺伝子機能解析法のストラテジー

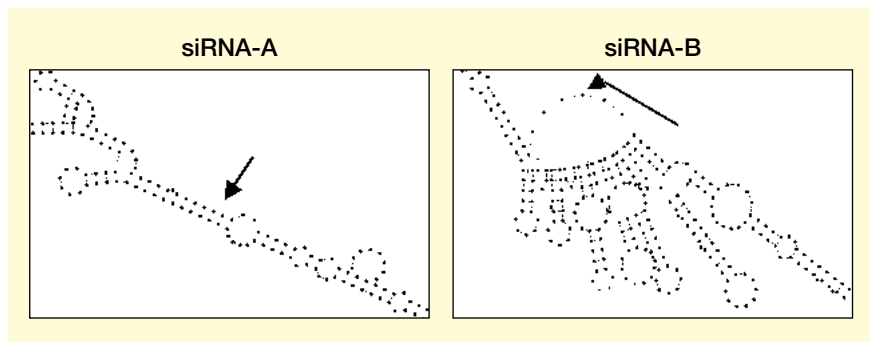


図2. ターゲット遺伝子mRNAの2次構造とsiRNA

した後、ターゲット部位の2次構造を検討し、構造が開いている部位をターゲットするsiRNAを優先して作成することになっている。

次にsiRNAの転写に用いるプロモーターを選択するが、U6 RNAあるいはH1 RNAポリメラーゼ転写系が一般的に用いられる。これは短いsiRNA配列でも効率よく転写されること、また配列に依存せず転写されることによる。我々はアンチセンスRNAやリボザイムに実績のあるU6プロモーターを選択した。U6プロモーターの下流にsiRNAを転写する配列をPCRで作製挿入し、発現カセットを作製する(詳細は次節参照のこと)。この発現カセットをプロモーターのないプラスミドに挿入することでsiRNA発現プラスミドを作製する。こうして完成したsiRNA発現プラスミドが機能するかどうか、ノックダウン効果が十分に効果的なsiRNAの配列であるかどうかを、ターゲット遺伝子を発現するプラスミドと同時に細胞に導入(co-transfection)し確認する。図3は293細胞にターゲット遺伝子をCMVプロモーター下に発現するプラスミドと、U6プロモーターだけを挿入した発現プラスミド(レーン3またはsiRNA-AをU6プロモーター下に発現するプラスミド(レーン4)またはsiRNA-BをU6プロモーター下に発現するプラスミド(レーン5)を同時にリポフェクション法で導入した後(48時間後)細胞の可溶化画分をSDS-PAGEに供し、特異抗体でウエスタンブロットした結果である。U6プロモーター単独(レーン3) siRNA-A(レーン4)は全く効果がなかったが、siRNA-B(レーン5)は著明にターゲット遺伝子の発現を抑制した。

こうしてノックダウン効果が確認された発現カセットをもつプラスミドを細胞に導入し、細胞が本来もつ内因性のターゲット遺伝子の発現をノックダウンさせ、ターゲット遺伝子の機能を検討する。ここで問題になるのは細胞にプラスミドを導入させうる効率である。リポフェクション法で高効率にプラスミドを導入させうる細胞は限られており、特に浮遊細胞やプライマリー培養細胞では一部の細胞にのみ導入出来るにすぎない。もちろんGFPを発現するプラスミドと同時に導入し、GFP陽性細胞のみをFACSをもちいて分離し検討する方法やプラスミドを導入できた個々の細胞でのみその機能を検討する方法でも可能だが多くの

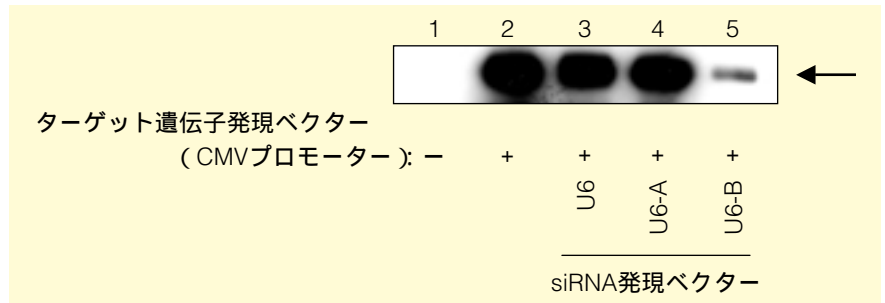


図3. 一過性発現系(Lipofection法)によるsiRNA発現ベクターの効果確認

制約がついてしまう。そこで高効率プラスミド導入法として、我々はエレクトロポレーションとウイルスベクターを用いている。最近浮遊細胞やプライマリー培養細胞にでも、高効率に遺伝子を導入可能なエレクトロポレーション法、Nucleofector™(amaxa)が登場した。我々が良く用いる培養細胞で各種販売されているリポフェクション試薬を検討すると、20~30%程度の遺伝子導入効率にすぎなかったが、Nucleofector™では60~70%以上の細胞に遺伝子を導入させうる事が出来た(未発表データ)。この高効率を得てはじめて、培養細胞の機能阻害実験が可能となったと考えられる。またsiRNA発現カセットはこれ自体でsiRNAの発現に対しては必要十分であるので、siRNA発現カセットをウイルスベクターに挿入し、ウイルス感染というかたちで高効率に遺伝子を導入する方法も良い。実際アデノウイルスベクターを用いてsiRNAを発現させ、内因性のターゲット遺伝子の発現をノックダウンさせたという報告もなされており、リポフェクション法やエレクトロポレーション法(Nucleofector™)では遺伝子導入効率の低い細胞を用いる場合検討されるべきものである。

#### 4 発現ベクター型siRNAの構築と転写シークエンスの利用(図4)

U6プロモーターの下流に挿入する配列はタンデムタイプとループタイプの2つのタイプに分かれる<sup>4)</sup>。我々はループタイプを選択しており、センス配列とアンチセンス配列をループ配列でつなぎU6プロモーターのターミネーター配列であるUUUUUに相当するTTTTTを入れる。このセンス配列から

TTTTTまでをPCRで合成し、U6プロモーターの下流に挿入する(図4参照)。この過程でPCRを実施しており、必ずシークエンスの確認が必要である。しかし通常のシークエンスではその反応過程で一本鎖にする必要があり、一本鎖になったセンス配列からTTTTTまでの配列はヘアピン構造をとるので、センス配列の前でシークエンス反応が停止してしまう。そこで転写シークエンス法を利用するために出来上がった発現カセットを、一旦T7プロモーターを有するプラスミドに挿入し、RNAポリメラーゼを用いて2本鎖のまま転写シークエンスすれば、簡単にシークエンスの確認が出来る。このプラスミドから発現カセットを抜き出し、プロモーターのないプラスミドやウイルスベクターに挿入すればsiRNA発現プラスミドベクターまたはsiRNA発現ウイルスベクターが完成する。細胞内で転写されたショートヘアピンRNAはDicerなどによりループ配列がプロセッシングされ、siRNAが発現しターゲット遺伝子の発現がノックダウンされることとなる。

#### 5 おわりにかえて

ループタイプの構造をもつsiRNAプラスミドを大腸菌で繰り返し増幅させると高頻度で組換えがおこることが知られているが、センス配列にミューテーションを導入することで軽減されるらしい<sup>4)</sup>。このようにsiRNAの作製や発現ベクターの構築、導入法などは日進月歩であり、論文として報告された時には、その手法はすでに時代遅れになっているかもしれない。多比良和誠博士らをはじめとして世界をリードする研究者が国内にも多数おり、特にsiRNAに関しては学会・研究会で積極的に報告されているようなので、十分にアンテナを

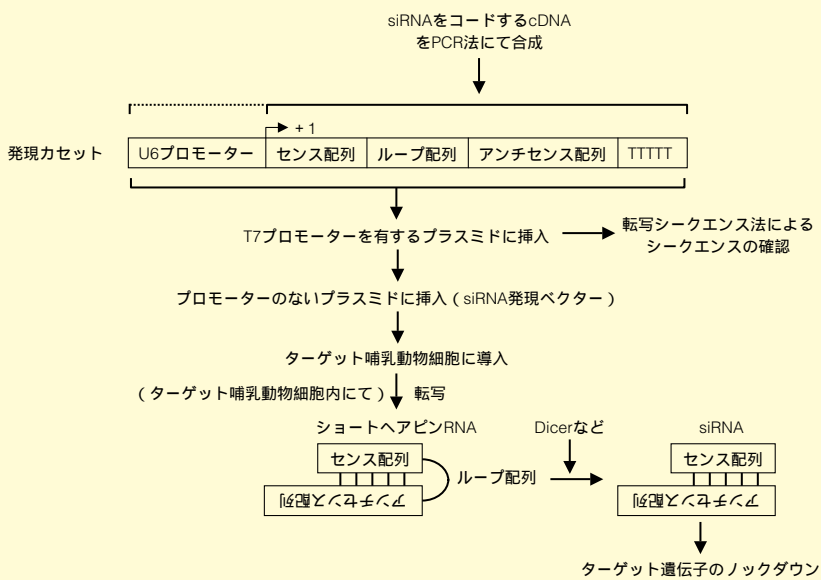


図4 . siRNA発現ベクターの構築と発現カセット

張り巡らし、情報を収集することも必要であろう。我々がアンチセンスで経験した、いくら作っても効かないというようなことはなく、積極的にラボのメソッドとして導入することをお勧めするものである。また近い将来*C.elegans*の遺伝子の機能解析のように、哺乳動物細胞でもsiRNAを用いて網羅的かつ体系的に全ての遺伝子について解析されるようになるで

あることが期待されるし、siRNAをもちいてマウス等の個体レベルでの遺伝子機能解析法が確立され、siRNAそのものが治療薬として開発されることも期待される。

我々の使用しているプロトコール全般にわたり九州大学生体防御医学研究所の中山敬一博士のご助言、ご指導を賜りました。心より感謝いたします。

【参考文献】

- 1) Fire, A. *et al.* : *Nature*, 391, 806-811 (1998).
- 2) Bernstein, E. *et al.* : *Nature*, 404, 363-366 (2001).
- 3) Miyagishi, M. & Taira, M. : *Nature Biotech*, 20, 497-500(2002).
- 4) 宮岸真、多比良和誠 : *実験医学*, 20, 2667-2672(2002).



Nucleofector™

エレクトロポレーションを利用しプライマリー細胞や株化細胞の核へ直接DNAを導入する効果的な非ウイルス導入法。細胞とDNA(オリゴ, RNA)を専用試薬に混ぜ、装置にセットするだけで、驚異的に高い導入効率が得られる。

転写シークエンス法

RNAポリメラーゼによる転写反応を利用したシークエンス法。シークエンス対象となるDNAの上流にファージプロモーターを配置し、ファージ由来のRNAポリメラーゼでチェーンターミネーション法を行い、目的遺伝子の塩基配列を決定する。

Dicer

RNase タイプのエンドヌクレアーゼ。dsRNAの3'側から認識していく。

Products

転写シークエンス



DNA受託シークエンスサービス

RNAによる転写反応を利用した転写シークエンス法<sup>1,2)</sup>は、サイクルシークエンス法では解析が困難な領域も解読できます。

威力を発揮する配列

- 高GC含量配列
- 反復配列
- 二次構造形成誘型
- G-rumおよびC-run

【参考文献】

- 1) Sasaki, K. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 3455(1998)
- 2) 伊澤真樹、石川友一、林崎良英 : *Mol. Med(Tokyo)* 36,1339 (1999)

転写シークエンス技術については、株式会社ニッポンジーンテックからサブライセンスを得ています。

詳しくは、お問合せ下さい。



株式会社 ニッポンジーンテック

CUGA®シークエンシングキット

転写シークエンス法によるシークエンシングキットです。

キット内容

- 1 . CUGA® 7 ( or 3 ) Enzyme Solution
- 2 . Enzyme Dilution Buffer
- 3 . NTP/Terminator Mixture
- 4 . 5 × Reaction Buffer
- 5 . 8mmol/l MnCl<sub>2</sub>
- 6 . Loading Dye Solution  
( MegaBACE™ 1000対応キットには添付されておりません )
- 7 . Control DNA
- 8 . ユーザーズマニュアル

パンフレットをご希望の方は、ご請求下さい。

### 1 はじめに

選択的なタンパク質の分解機構は、特定のタンパク質の量を時間的、空間的に制御するために機能し、細胞周期、アポトーシス、代謝調節、シグナル伝達、転写制御、免疫応答などの高次機能の制御や、ストレス応答、タンパク質の品質管理など恒常性の維持、さらには受精、発生など様々な生命活動において重要な役割を担っていることが知られている。特にユビキチン-プロテアソームシステムは、生体内の数多くの生体機能に重要なATP依存的タンパク質分解経路であり、最も重要な選択的タンパク質分解システムの一つである。その厳密な選択性、分解の迅速さから考えれば、ユビキチン-プロテアソームシステムを「タンパク質の殺し屋」と比喻することも過剰ではない。ここでは、次々と開拓されるユビキチン-プロテアソームシステムの世界を簡単ではあるが論じたいと思う。

### 2 ユビキチン-プロテアソームシステム

ユビキチンは進化的に高度に保存された低分子量のタンパク質(76aa, 8.6kDa)であり、C末端のグリシン残基を介してユビキチン活性化酵素(E1)のCys残基へATP依存的にチオエステル結合する。次に、ユビキチン結合酵素(E2)がCys残基を介してE1からユビキチンをチオエステル結合で受け取る。最後に、ユビキチンリガーゼ(E3)を

介して標的タンパク質の特定Lys残基の持つε-アミノ基にユビキチンがイソペプチド結合により共有結合する。結合したユビキチン分子のLys残基にさらにユビキチンが結合するという反応を繰り返すことで、標的タンパク質に長いポリユビキチン鎖が付加される。このポリユビキチン鎖こそが分解シグナルであり、ポリユビキチン化された標的タンパク質は26Sプロテアソームによって捕獲される。26Sプロテアソームは、このポリユビキチン鎖を19S制御サブユニットの一つであるS5a/Rpn10で認識し、分解活性中心を含む20Sプロテアソームの中へATP依存的に取り込み、標的タンパク質を短いペプチド鎖にまで加水分解する( Fig.1 )<sup>1)</sup>。ユビキチン-プロテアソームシステムは、このようなカスケード反応により、狙ったタンパク質だけを選択的かつ迅速に分解へと導くことができる。また、ユビキチン-プロテアソームシステムの研究をする上でプロテアソーム阻害剤を利用して、基質およびポリユビキチン化体の蓄積を検出する実験がしばしば行われる。代表的なプロテアソーム阻害剤としてはMG-132( Z-Leu-Leu-Leu-CHO )やLactacystinが知られている。

### 3 ポリユビキチン化修飾システム

E1は一つの生物種に1種類しか確認されていないが、E2とE3には分子多様性があり、数多く同定されている( Table.1 )。出芽酵母ではすべてのE2遺伝子( 13種類 )

がクローニングされているが、ヒトでクローニングされたE2との機能的相関性についてはいまだに不明な点が多い。また、標的タンパク質にユビキチンを連結させる酵素であるE3は、標的分子を選択する重要な酵素である。そのE3は、一次配列に含まれる特徴的なドメイン配列から、HECT型E3、RING型E3、U-box型E3に大別される。

HECT型E3は、HECT( homologous to E6-AP carboxy terminus )ドメインを介してE2と結合し、ドメインに含まれる特定のCys残基でユビキチン分子とチオエステル結合することで、E2からユビキチンを受け取る。そして認識した標的分子にユビキチン分子をイソペプチド結合させる<sup>2)</sup>。代表的なHECT型E3として、E6-AP、Nedd4、Ufd4、Smurf-1、hHYD等が知られている。一方、RING型E3はZn<sup>2+</sup>を二つ取り込んだ構造をとるRING finger domainと呼ばれるアミノ酸配列を有している。いくつかのRING型E3は、このドメインを介してE2と結合することが確認されている<sup>3)</sup>。代表的なRING型E3としてMdm2、c-Cbl、IAP、BRCA1、Parkin、TRAF6等が知られており、現在最も多く報告されているのがこのRING型E3である。また、APC/C( Anaphase Promoting Complex/ Cyclosome )やSCF-Roc1( Skp1, CDC53/ Cul1, E-box and Roc1 )などの複合体型のE3の活性中心としても知られている<sup>4)</sup>。U-box型E3は、RING finger domainと類似した高次構造を形成するがZn<sup>2+</sup>を含まないU-box domainを介してE2と結合することができる<sup>5)</sup>。代表的なU-box型E3としてUFD2a、b、CHIP等が知られている。

### 4 細胞周期とユビキチン-プロテアソームシステム

細胞周期の進行は厳密に制御されており、細胞周期のサイクルは一方的、不可逆的なものになっている。この不可逆性を生み出している仕組みに、ユビキチン-プロテアソームシステムが深く関わっている。細胞周期を制御するE3としては、M期に働くAPC/CとG<sub>0/1</sub>、S、G<sub>2</sub>移行に働くSCF-Roc1複合体がよく研究されている。APC/Cは出芽酵母で12種、分裂酵母で

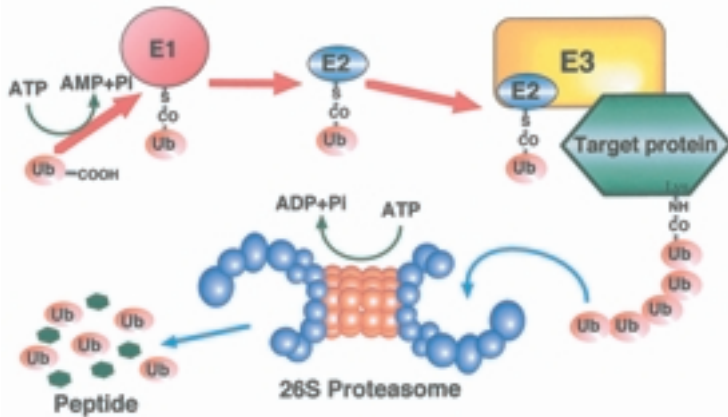


Fig.1 . ユビキチン - プロテアソームシステム

Table1 . ユビキチン、ユビキチン様タンパク質修飾システム

	E1	E2	E3	基質	機能
Ubiquitin	Ube 1	UbcH1, HHR6a,b, hCDC34, hUbc4, UbcH5a~c, UbcH6, UbcH7, UbcH8, UbcH10, hE2-25K etc.	HECT type 多数 RING type 多数 U-box type 多数	多数	主にタンパク質分解
SUMO-1	Uba2/Sua1	hUbc9	PIA S family RanBP2	p53, RanGAP1, PML, Sp100 etc.	細胞内局在が変化 Ubと競合し安定性 転写活性促進 etc.
Nedd8	Uba3/APP-BP1	hUbc12	RING type Roc1	Cullins	活性化

9種、そしてヒトでは11種のサブユニットが同定されている巨大なタンパク質複合体である。M期において、分裂中期から後期の移行時にAPC/CはM期に働くE2であるUbcH10からユビキチンを受け取り、securinをポリユビキチン化して分解して姉妹染色体の分配を開始させる。さらに分裂後期ではCyclin B及びAurora A kinase等をポリユビキチン化して分解へ導くことで、続く細胞質分裂、M<sub>1</sub>移行を可能にする<sup>6)</sup>。一方、SCF-Roc1はSkp1、Cul1、F-box familyタンパク質、そしてRoc1を中心的な構成成分として持つタンパク質複合体であり、hCDC34、hUbc4、UbcH5などのE2と相互作用することが知られている。F-box domainを含むF-box familyタンパク質が標的タンパク質を認識し、Cul1-Roc1がユビキチン化反応の活性中心となり、Skp1がF-box familyタンパク質とCul1の繋ぎ役となる。TrCPをF-boxタンパク質として持つSCF<sup>TrCP</sup>は転写因子NF- $\kappa$ BのinhibitorであるI $\kappa$ Bを、Skp2をF-boxタンパク質として持つSCF<sup>Skp2</sup>はCyclin/CDK inhibitorのp27<sup>KIP1</sup>を、そしてhCdc4をF-boxタンパク質として持つSCF<sup>hCdc4</sup>がCyclin Eをポリユビキチン化し、分解を促すことがG<sub>0/1</sub> S G<sub>2</sub>移行に重要な役割を果たしている<sup>7)</sup>。このように、ユビキチン-プロテアソームシステムは細胞周期のカギとなる重要なタンパク質を分解することで、細胞周期の移行を確かかつ不可逆的なものにしていく。

### 5 ユビキチン-プロテアソームシステムの関わる疾患

ユビキチン-プロテアソームシステムの詳細が明らかになっていくに連れて、様々な疾患にユビキチン-プロテアソームシステムが関わっていることが明らかになってきた。特に癌細胞では、E3であるMdm2、c-Cbl、BRCA1、Siahによるユビキチン化に異常をきたしていることが多く報告されている<sup>8)</sup>。また、神経性疾患においてもユビキチン-プロテアソームシステムの関わりが多く知られている<sup>9)</sup>。ハンチントン病原因遺伝子*huntingtin*のコードする*huntingtin*タンパク質においては、E2であるhE2-25Kとの相互作用が確認されている。パーキンソン病では、原因遺伝子の一つ*Parkin*の遺伝子産物はE3活性を持っていること、患者の神経細胞のレビー小体にはユビキチンと脱ユビキチン化活性/ポリユビキチン結合活性の両方を持つタンパク質UCHL1が蓄積していることが知られている。しかも家族性パーキンソン病の家系では、このUCHL1遺伝子にミスセンス変異が見られる。アンジェルマン症候群患者では、E3活性を持つE6-APがコードされているUBE3A遺伝子に変異がおこっていることが幾つか見出し出されている。そして、アルツハイマー病、ダウン症候群においては、ユビキチンの大脳皮質での沈着が認められている。このように、多くの疾患においてユビキチン-プロテアソームシステムが関与している事例が次々と報告されている。この分野の研究が、多くの難治疾患の特

効薬を開発する突破口となる日は近い。

### 6 似て非なる機能、ユビキチン様タンパク質

最近、ユビキチンと相同性のあるユビキチン様タンパク質(Ubiquitin-like protein/Ubl)が細胞の様々な機能に関与することが次々と報告されている。Ublは一般的に型と型に分けて呼ばれ、型UblはUbl domainのみで構成されたUblタンパク質のことを指し、型Ublは部分的にUbl domainを含むタンパク質を指す。ヒトの型UblではSUMO-1、Nedd8が特に研究されている。型Ublはユビキチンと酷似したE1-E2経路によって標的タンパク質を修飾する(Table 1)<sup>10)</sup>が、ポリユビキチン鎖の様に重合することはないと考えられている。SUMO-1では、Uba2/Sua1ヘテロ二量体がE1、Ubc9がE2となり、PIAS familyタンパク質、RanBP2がE3として働くことが最近報告された。基質にはp53、RanGAP1、PML、Sp100等数多く報告されている。SUMO-1化修飾の機能はいまだ明確ではないが、基質の細胞内局在制御や、安定性制御に影響するという報告が多い。一方、Nedd8では、Uba3/APP-BP1ヘテロ二量体がE1、Ubc12がE2となり、Roc1がE3として働くことでCullin familyタンパク質に共有結合する。SCF-Roc1において、Cul1のNedd8化修飾はE2との結合能を上げ、基質に対するポリユビキチン化活性を活性化させることが報告されている<sup>11)</sup>。Ublにはまだまだ解明のされていないものが多く存在し、今後の解明が待たれる分野である。

#### 【参考文献】

- 1) Hershko, A. and Ciechanover, A. : *Ann. Rev. Biochem.*, 67, 425-479(1998)
- 2) Scheffner, M., Huijbregtse, J. M., Howley, P. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 8797-8801(1994)
- 3) Joazeiro, C. A., Weissman, A. M. : *Cell*, 102, 549-552(2000)
- 4) Ohta, T., Michel, J. J., Schottelius, A. J., Xiong, Y. : *Mol. Cell*, 3, 535-541(1999)

- 5 ) Hatakeyama, S., Yada, M., Matsumoto, M., Ishida, N., Nakayama, K. *J. Biol. Chem.*, 276, 33111-33120( 2001 )
- 6 ) Peters, J. M.: *Mol. Cell*, 5, 931-943( 2002 )
- 7 ) Laney, J.D., Hochstrasser, M. : *Cell*, 97, 427-430( 1999 )
- 8 ) 岩井一宏 : 実験医学, 18, 1465-1469( 2000 )
- 9 ) 阿南正 : 蛋白質 核酸 酵素, 44, 776-786( 1999 )
- 10 ) Yeh, E.T., Gong, L., Kamitani, T.: *Gene*, 248, 1-14( 2000 )
- 11 ) Mark Hochstrasser: *Cell*, 107, 5-8( 2001 )



**E1**  
ubiquitin activating enzyme, ユビキチン活性化酵素

**E2( Ubc )**  
ubiquitin conjugating enzyme, ユビキチン連結酵素  
or ubiquitin carrier protein, ユビキチン運搬酵素

**E3**  
ubiquitin ligase, ユビキチンリガーゼ

**HECT型E3**  
homologous to E6-AP carboxy terminus domainを持つE3

**RING型E3**

Zn<sup>2+</sup>を結合するRING finger domainを持つE3

**SCF**

Skp1, cullin/cdc53, F-box蛋白質を主要構成因子として持つE3

**APC/C**

anaphase-promoting complex/cyclosome, 細胞周期の分裂期に機能するE3

**Ubl**

ubiquitin-like protein, ユビキチン様のドメインを持つ蛋白質で代表的なものにSUMO, Nedd8等がある。

**Products**



タンパク質分解の研究に

ユビキチン-プロテアソーム関連試薬

コードNo.	品名	規格(メーカーコード)	容量	希望納入価格(円)
<b>E1 (ユビキチン活性化酵素)</b>				
219-01111	Ubiquitin Activating Enzyme, Mouse, recombinant, Solution	細胞生物学用	25µg	30,000
<b>E2 (ユビキチン転移酵素)</b>				
213-01131	Ubiquitin Conjugating Enzyme, Ubc3, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
215-01191	Ubiquitin Conjugating Enzyme, UbcH5a, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
218-01201	Ubiquitin Conjugating Enzyme, UbcH5b, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
216-01121	Ubiquitin Conjugating Enzyme, UbcH5c, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
210-01141	Ubiquitin Conjugating Enzyme, Ubc9 (SUMO-1), Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
217-01151	Ubiquitin Conjugating Enzyme, Ubc12 (NEDD8), Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
<b>UBL (ユビキチン様タンパク質)</b>				
199-12771	SUMO-1, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	200µg	30,000
145-07621	NEDD8, Human, recombinant, Solution	細胞生物学用	100µg	30,000
<b>Inhibitor (阻害剤)</b>				
131-14011	MG-115	生化学用	5mg	24,000
138-14021	MG-132	生化学用	5mg	22,000
135-14031	MG-262	生化学用	100µg	39,000
215-01071	Ubiquitin Aldehyde	生化学用	50µg	38,000
333-43681	Lactacystin [ペプチド研究所]	(4368-V)	0.2mg	20,000
031-18201	clasto-Lactacystin -Lactone	生化学用	100µg	36,000
058-06841	Epoxomicin	生化学用	100µg	32,000
<b>Substrate (基質)</b>				
164-20511	20S Proteasome Fluorogenic Substrate	生化学用	5mg	24,000
<b>Proteasome (プロテアソーム)</b>				
161-20521	20S Proteasome, from Human Erythrocyte	生化学用	50µg	34,000
<b>Antibody (抗体)</b>				
535-50391	Anti Human Ubiquitin, Monoclonal Antibody( Clone: 3-39 )( Sentek Ltd. )	(500-02)	200 µl	169,000
538-50381	Anti Human Ubiquitin, Monoclonal Antibody( Clone: 525 )( Sentek Ltd. )	(400-02)	200 µl	169,000
305-06741	Anti Ubiquitin, Monoclonal Antibody( Clone: FK1 )( 日本バイオテスト研究所 )	-	1mg	35,000
302-06751	Anti Ubiquitin, Monoclonal Antibody( Clone: FK2 )( 日本バイオテスト研究所 )	-	1mg	35,000
572-28751	Anti-Ubiquitin, Bovine ( Rabbit ) [Calbiochem]	(662099)	50 µl	42,500

腎機能を評価する場合には、老廃物の排泄能を示す糸球体濾過値 (GFR: glomerular filtration rate) を意味することが多い。腎を構成するネフロンの中でも糸球体は原尿の産生に最も関係ある濾過装置と考えられ、濾過量すなわち糸球体機能と考えても大きな誤りはない。ネフロンの減少とGFRの低下とは平行関係にあるので、腎機能を評価する上でGFRの正確な測定は臨牀的にきわめて重要である。

### 1 糸球体濾過値 (GFR) <sup>1, 2)</sup>

イヌリン、マンニトール、クレアチニン、チオ硫酸ナトリウムなどの物質は体内で酸化分解されることなく、糸球体を自由に通過し、ある濃度以内では尿細管から排泄されることも再吸収されることもなく、正常腎では尿中に排泄される。これらの物質の糸球体濾液中濃度は血漿中濃度 (P) に等しいことが証明されており、1分間に尿中に排泄されるこれらの物質の量 (UV) は1分間に糸球体において濾過される量に等しい。従ってこれらの物質のクリアランス値は次式より求められる。腎機能を評価するうえでGFRの正確な評価は臨牀上きわめて重要である。GFRの正常値は、70~130mL/minであり、50歳以上では年齢とともに減少傾向にある。

$$GFR (mL/min) = UV/P \cdot 1.48/A$$

U: 尿中濃度 (mg/dL)

V: 1分間尿量 (mL)

P: 血漿中濃度 (mg/dL)

A: 体表面積 (m<sup>2</sup>)

1.48: 日本人体表面積 (m<sup>2</sup>)

GFR測定物質の条件として、血漿蛋白と結合することなく、糸球体で完全に濾過され、尿細管での分泌・再吸収がないだけでなく測定時間中は血漿中濃度が一定であることが必要である。臨牀上では、内因性クレアチンクリアランスが最も普及している。クレアチニンは糸球体で濾過された後、尿細管で一部排泄されるため真のGFRを反映しないが、骨格筋の終末代謝産物であるため食餌の影響を受けず、

その血中濃度および尿中排泄量の日内変動が少ない。また負荷を必要としないため頻回の測定が可能である。この点では、腎機能障害の程度の評価や薬剤の投与量を決定する上で臨牀上有用である。

イヌリンは、注射液の調製や血中および尿中イヌリン濃度測定の手技が煩雑であること、副作用があることにより、臨牀上使用されることは希である。しかしながら、正確にGFRを表す物質として、動物における腎機能の評価にはイヌリンが推奨されている。特に、製薬会社における新薬開発においては、薬剤投与前からイヌリン注射液を持続注入し、薬剤投与前後のイヌリンクリアランスを測定して薬剤の腎への影響をスクリーニングする。

### 2 イヌリン注射液とエンドトキシン <sup>3)</sup>

イヌリン注射液は市販されていないため、試薬のイヌリン末を用いて調製したものが、院内製剤として臨牀に供給されており、また動物実験に使用されている。イヌリンは *Dahlia variabilis* の塊茎から得られる多糖類が原料であるため、細菌が繁殖または混入する可能性が合成品より高い。したがって、イヌリン注射液の原料として用いるイヌリン末はエンドトキシンが混入している可能性が十分考えられる。注射剤は、医薬品の中で最も高い品質を必要とする剤形であり、注射液中に発熱性物質が存在しないことはその必須条件の一つである。発熱性物質 (pyrogen) とは体内に入ると発熱を起させる物質であり、その代表的な物質としてエンドトキシンが挙げられる。エンドトキシンはリポ多糖 (LPS) からなるリポポリサッカライドでグラム陰性菌由来の内毒素であり、自然界に存在する最も強力な発熱性物質である。エンドトキシンが混入した注射液を静脈内投与すると、発熱、低血圧、臓器障害が誘発することが報告されている。そのため、注射剤を調製する際には、エンドトキシンが混入していない原料を厳選し、注射剤の代表的な溶媒である注射用水の製造には十分な注意を払う必要がある。万一混入した場合には、水に易溶性であるためその除去は困難をきわめる。

### 3 イヌリン注射液の調製とエンドトキシン濃度の測定 <sup>4-6)</sup>

試薬イヌリン末を使用して調製したイヌリン注射液にエンドトキシンが混入しているか検討した。注射液はイヌリン末10gを注射用水100mLに加熱溶解し、メンブランフィルター (孔径0.8 μm: セルロースエステル製) を用いて不溶性異物を除去した後、褐色アンプルに5mLずつ分注して密封し、蒸気滅菌 (100℃、60分) した。日本薬局方発熱性物質試験 <sup>7)</sup> に準じ、ウサギ (雄性、体重: 3kg) の耳静脈から、塩化ナトリウムを添加して等張化した10%イヌリン注射液 (イヌリン末: 和光純薬試薬特級, Lot. No: SAP9480) 30mLを10分間かけて定速注入し、4時間まで経時的に直腸体温を測定した。イヌリン注射液投与前のウサギの直腸体温はほぼ一定であったが (37.4℃) 耳静脈から定速注入終了後20分から急激に上昇し、1.5時間後38.9℃ (+1.5℃) に達した (図1)。その後、徐々に低下したが、4時間後においても38.3℃と高値であった。0.6℃以上の温度上昇が認められたことから陽性である可能性が示唆された。

次に、注射液中のエンドトキシン濃度をエンドトキシン試験 (ゲル化転倒法) とリムルス比濁時間分析法により測定した。エンドトキシン試験用キットは、リムルスHS-Jシングルテストワコー (和光純薬; Lot No. TMH0182) を、比濁時間分析法の測定試薬はリムルスHS-Jテストワコー (和光純薬; Lot No. AMP0047) を用いた。まず、ウサギで発熱性を認めた10%イヌリン注射液にエンドトキシン試験を適

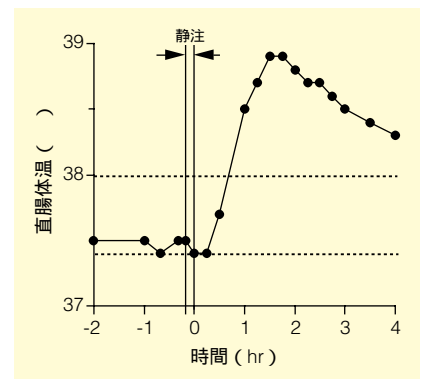


図1. 10%イヌリン注射液30mLを家兔に静脈内注射した後の直腸体温の変化 (イヌリン末: 和光純薬Lot.No. SAP9480)



用した結果、ゲル化して陽性を示し、さらに希釈法により求めた注射液中エンドトキシン濃度は約12EU/mLであった。比濁時間分析法を適用した場合は、エンドトキシン濃度は13.9EU/mLを示し、ゲル化転倒法で推定した濃度とほぼ一致した。和光純薬の別のロットおよび東京化成の試薬においてもエンドトキシンの混入が認められたことから、イヌリン注射液中にはエンドトキシンが含まれていることは明らかであった。検出したエンドトキシン濃度値は注射水の限度値0.25EU/mL(日本薬局方14局<sup>7)</sup>)より40倍以上高く、また米国のFood and Drug Administration( FDA ) 規定<sup>8)</sup>の限界値(イヌリン1mgあたり0.10 EU)を越えるものであった。ヒトにおいては4EU/kgで発熱性を示したと報告されていることから、このイヌリン注射液を30mL以上注入すると、発熱する危険性が考えられる。以上のことからイヌリン注射液を調製する際には、エンドトキシンの除去が必須である。しかし、エンドトキシンは水溶性であるため、通常の濾過法では除去されず、また高圧蒸気滅菌によっても完全には失活しない。

#### 4 イヌリン注射液中のエンドトキシンの除去<sup>4)</sup>

##### 1) 活性炭による除去

コントロールエンドトキシンを注射用水で溶解および希釈して調製したエンドトキシン水溶液(10EU/mL)に、活性炭をそれぞれ、0.1%、0.5および1.0%の濃度に添加し、5分間攪拌した。溶液中の活性炭はメンブランフィルター(孔径0.8μm:セルロースエステル製)を用いて除去した。得られた濾液中のエンドトキシン濃度を測定した結果、0.1%活性炭で処理した場合、濾液中のエンドトキシンは85~94%除去されたが、注射水の限度値0.25EU/mLと比較して、除去は不十分であった。一方、0.5および1%処理では定量感度以下になり、0.5%以上の濃度での活性炭処理で十分なエンドトキシン除去が可能であることが示された。次に、イヌリン注射液(イヌリン末:Lot No. SAE9480)に10EU/mL相当のエンドトキシンを添加した後(総濃度10.8 EU/mL)活性炭を

0.5%の濃度に添加して処理したところ、エンドポイント以下の濃度に低下し、さらに発熱性物質試験を適用した結果、発熱性は認められなかった。活性炭によるエンドトキシンの吸着の効果であると考えられる。

##### 2) フィルターによる除去

エンドトキシンを含む水溶液(10EU/mL)および10EU/mL相当のエンドトキシンを添加したイヌリン注射液をセルロースエステル製(孔径0.22μm、直径25mm: Millipore)およびポジダイン®・ナイロン66製メンブランフィルター(孔径0.2μm、直径25mm:日本ポール)を用いて濾過した。液量は10mL、濾過速度は1~7.5mL/minとした。得られた濾液中のエンドトキシン濃度は、セルロースエステル製メンブランフィルターで処理した場合、水溶液およびイヌリン水溶液ともに陽性であったが、ポジダイン®・ナイロン66フィルターでは、エンドトキシン濃度は定量感度以下に低下した。

ポジダイン®・ナイロン66フィルターは、膜表面に四級アンモニウム基を有し、pH3~10の水溶液中では正に荷電する。また、リン酸塩を含むエンドトキシンはpH2以上の水溶液中で強く負に荷電するため、膜表面上の四級アンモニウム基と静電的に吸着することから、輸液の点滴の際のファイナルフィルターとして利用されている<sup>10)</sup>。イヌリン末に混入している临床上問題となる量のエンドトキシンは、注射液の調製工程で活性炭処理またはポジダイン®・ナイロン66フィルターの使用により除去することが可能である。

#### 5 イヌリンクリアランスの測定法<sup>2, 11)</sup>

動物はラットかウサギを用いる。イヌリンを単回投与する非定型クリアランス法と定速注入する定型クリアランス法があるが、後者の定型クリアランス法の方が安定した測定値が得られるため贅用される。ここではラットを用いた定型クリアランス法について概説する。

まず、ラットに麻酔をかけた後、背位に固定して導尿カテーテルと片側の股静脈と股動脈にカニューレを挿入する。イヌリンを定速注入する前に、尿量を確保するために静脈カニューレから生理食塩液または4%マン

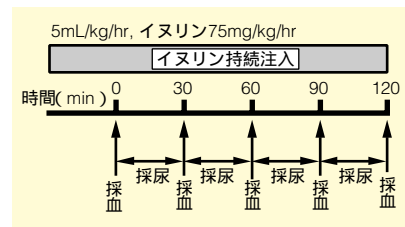


図2. 定型クリアランス法における採血と採尿のスケジュールの例

ニール生理食塩液を持続注入する。尿量が安定した後、イヌリン注射液を持続注入し、血中イヌリン濃度が定常に達したと考えられる1時間後から、30分毎に動脈から採血する。尿は、採血の間を区切りとして全量を採取して尿量を測定する(図2)。薬剤のイヌリンクリアランスに与える影響を調べるためにその薬剤を静脈内投与する場合には、反対側の股静脈から投与する。尿中と血中のイヌリン濃度を測定し、尿中濃度と尿量から求めた単位時間あたりのイヌリンの排泄速度を、採尿の前後の血中濃度の平均値で除した値がその採尿区間のイヌリンクリアランスとなる。尿中および血中イヌリン濃度は、アンスロンを用いた比色法などを用いて測定する。

#### 6 イヌリン注射液の市販化

イヌリン注射液の調製の際には、イヌリン末を注射用水に熱溶解して調製するが、イヌリン水溶液は結晶が析出しやすく、調製後長期に保存することは不可能であった。そこで、イヌリンを分画して、結晶が析出しないイヌリン注射液の調製を試みた<sup>12)</sup>。

イヌリン末を熱溶解しエタノールを添加して沈殿した結晶を用いて20%水溶液を調製した。活性炭処理とプラス帯電の孔径0.2μm ナイロン66製フィルター(ゼータポア®ディスコ)により滅菌およびエンドトキシンを除去した。注射液のpH、浸透圧は従来のイヌリン注射液とほぼ同じであり、注射液中のエンドトキシン濃度は、定量感度以下に低下した。注射液の性状は、6カ月経過しても変化は認められなかったことから、この分画イヌリン注射液は、調製後の品質と安定性が確保された製剤であることが示されている。

次に、分画イヌリン注射液をラットに投与した場合のクリアランス値を従来の非分画注射

液と比較した。血中と尿中イヌリン濃度を測定して求めた30分毎のクリアランスの平均値をそのラットのイヌリンクリアランス値とした。その結果、旧注射液は $7.9 \pm 1.0 \text{ mL/min/kg}$ 、新注射液は $7.6 \pm 1.5 \text{ mL/min/kg}$ であり、両者間の差は認められなかった。このことから、分画イヌリン注射液は動物実験における腎機能測定に有用であり、臨床での使用の可能性も示唆された。この分画イヌリン注射液は動物実験用として和光純薬(株)から20w/v%イヌリン溶液(低分子量分画)として発売されている。

#### 【参考文献】

- 1) 臨床検査法提要、第29版、金原出版、東京、1983、pp805-809.
- 2) 猪阪善隆、今井圓裕、堀尾勝、鎌田武信：腎クリアランス検査、検査と技術、24、159-162(1996)。
- 3) 加納晴三郎：総合臨床、29、453-458

- (1980)。
- 4) 青山隆夫、松元美香、伊賀立二ら：病院薬学、23、108-114(1997)。
- 5) 小川義之、村井敏美、川崎浩之進：J. Antibact. Antifung. Agents, 21、23-30(1993)。
- 6) 藤原博、石田説而、島崎義男、内藤誠之郎、土谷正和、松浦脩治：薬学雑誌、110、332-340(1990)。
- 7) 第14改正日本薬局方条文と注釈、第一部、廣川書店、東京、2001、pp37-45、pp153-154。
- 8) 「ヒト及び動物用非経口製剤、生物学的及び医療用具に関する最終製品エンドトキシン試験のパリテーションガイドライン」p31、大阪医薬品協会、平成元年9月。
- 9) 「ゼータ電位メンブレン"ポジサイン"のエンドトキシン除去性能評価(第一報)」日本ポール社、社内資料。
- 10) T.G. Baumgartner, G. L. Schmidt, K. M. Thakker, H. S.Sitren, J. J. Cerda, S. M. Mahaffey, E. M. Copeland : Am. J. Hosp. Pharm., 43, 681-684 (1986)。

- 11) 花野学、梅村甲子郎、伊賀立二編：医薬品開発のためのファーマコキネティクス実験法、初版、ソフトサイエンス社、東京、1985、pp237-252。
- 12) 草間真紀子、青山隆夫、井上隆夫、伊賀立二ら：日本薬学会第121年会要旨集、p133(2001)。



#### ネフロン

ネフロンは腎小体と呼ばれ、糸球体と尿細管からなるひとつの単位である。一つの腎臓に約100万個のネフロンがある。糸球体は血液をろ過して老廃物や原尿を尿細管に送り、尿細管では原尿中の必要な成分が再吸収される。最終的に吸収されなかった物質は濃縮されて尿として排出される。

#### クリアランス

ある物質が腎臓で完全に除去される血漿の量をその物質のクリアランスという。通常、単位時間あたりの尿中排泄量を血漿中濃度で除した値となる。



## Products



### 溶解調製の手間いらず

## イヌリン溶液(低分子量分画)

イヌリンは主にキク科の植物に分布する貯蔵多糖です。イヌリンは血液内投与すると腎で排泄されますが、その際、糸球体を自由に透過し、尿細管では分泌も再吸収もされません。そのため腎機能の指標となる腎糸球体濾過値(GFR)測定の標準物質として利用されています。

イヌリンを投与する場合には、水溶液にする必要がありますが、イヌリン末は水に溶けにくく、溶解後も結晶が析出しやすい性質を持っています。また、イヌリン末に含まれることがある発熱作用を有するエンドトキシンを除去することも必要であるため、イヌリン溶液の調製には非常に手間がかかります。

本品は、イヌリンを20w/v%の濃度に溶解した溶液ですので、希釈するだけでご使用頂けます。さらに、エンドトキシンを除去していますので、安心してご使用頂けます。

#### 特長

イヌリン末の溶解が不要  
低エンドトキシン溶液(0.25EU/ml以下)

#### 貯法

2~10

#### 【参考文献】

- 1) 青山隆夫、松元美香、伊賀立二 他：病院薬学、23、108(1997)
- 2) 草間真紀子、青山隆夫、井上隆夫、伊賀立二 他：日本薬学会第121年会要旨集、p133(2001)
- 3) 花野学、梅村甲子郎、伊賀立二編：医薬品開発のためのファーマコキネティクス実験法、ソフトサイエンス社、1985、p237。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
091-04853	20w/v% Inulin Solution	生化学用	2ml × 5	16,000
095-04851	(Low Molecular Fraction)		10ml × 5	60,000

## 第51話 トキシノメーターの応用

トキシノメーターの特長として、広い範囲で定量できる、ゲル化法と同じ操作で測定できる、測定を始めたら放っておける（測定終了後いつ結果を取りだしてもよい）、一検体ずつ別々に測定できる、測定時間を延ばすとより低濃度まで測定ができる、などが挙げられます。今回は、トキシノメーターの特長を活かした使い方について考えてみましょう。

トキシノメーターの測定時間は通常60分程度と思われる。測定時間を延長すると、エンドトキシンをより低濃度まで測定できます。エンドトキシン試験の観点からは、検量線の最低濃度を低く取ることによって最大希釈倍率（MVD）が大きくなり、反応への影響が大きい試料の測定に有用な方法となります。例えば、リムルスES- シングルテストワークを用いて60分測定した場合の検量線の最小値が0.005EU/ml、120分測定した場合の検量線の最小値が0.001EU/mlであったとすると、120分測定を行うと最大希釈倍率が5倍大きくなるため、試料をさらに5倍希釈して試験することが可能になります。この方法を使われている方は多いのではないかと思います。

逆に測定時間を短くすることを考えてみましょう。ゲル化法では60分後に反応液がゲル化しているかどうかを調べます。0.03EU/mlのエンドトキシンを検出しようとする場合、ゲル化法なら、ラベル感度が0.03EU/mlのLAL試薬を用いて試験を行います。試験時間は60分で、60分後に必ずゲル化の確認が必要です。トキシノメーターなら同じ感度のLALを使っても40分程度で0.03EU/mlのエンドトキシンを検出できますから、測定時間を短くすることができます。また、測定終了時に操作者が確認等を行う必要がありません。時間に制限がある場合、感度の高いLALを用いて、できるだけ少ない希釈で測定することで、目的を達成することができる場合があります。

放射性医薬品の場合を考えてみましょう。最近医療の場で使われるようになってきたポジトロンエミッショントモグラフィ（PET）用の医薬品の中に<sup>18</sup>F-2-フルオロ-2-デオキシグルコース（<sup>18</sup>F-FDG）があります。日本薬局方では、血液内投与薬剤のエンドトキシン許容量を、体重1kg、1時間あたり5EUとしています。FDG溶液の投与量を1回あたり最大

20ml、成人体重を60kgと仮定すると、体重1kgあたりの投与量は0.33mlとなり、0.33ml中に5EU、1ml中に15EUがエンドトキシン許容量となります。我々の実験でFDGは10倍希釈すると影響なく測定が可能という結果を得ていますから、10倍希釈FDG中のエンドトキシン許容値、1.5EU/mlをできるだけ早く検出することが目標となります。リムルスES- シングルテストワークを用いてトキシノメーターで測定を行うと、1EU/mlのエンドトキシンを10分程度で検出することができます。すなわち、10倍希釈FDGが使用可能かどうかを10分以内に判定できるということになります。<sup>18</sup>F-FDGの半減期は118分ですから、ゲル化法で60分の測定時間を費やすことを考えると、トキシノメーター法は短時間で結果が得られます。その他の核種の半減期は、<sup>11</sup>Cで20.3分、<sup>13</sup>Nで9.8分、<sup>15</sup>Oで2分とさらに短く、これらの核種を用いた放射性医薬品にとって、トキシノメーター法は非常に有用な方法と思われる。

その他、エンドトキシン試験の結果を待って次の工程に入ろうとする場合にも、これを応用することができると思われる。すなわち、測定への影響を除けるできるだけ低い希釈倍率で、できるだけ高感度の試薬を使用して試験することにより、目的のエンドトキシン許容値をより早く検出し、次の工程へより早く進むことができます。

トキシノメーターは、試料の希釈倍率、使用するLALの感度などによって、いろいろな使い方ができると思われます。読者の皆さんの中にも、トキシノメーターを工夫して使用されている方がおられると思います。もしよろしければ、皆さんのアイデアもお知らせ下さい。

今回は、第52話「エンドトキシンの種類」の予定です。



## 意思決定への前頭前野内側部5-HT及び身体反応の関与

名古屋大学 大学院環境学研究所 野村 理朗

ヒトの情動行動の基礎となる、扁桃体と前頭眼窩野の機能について前回述べたが、今回はヒトの意思決定にかかわる情動の役割について前頭眼窩野とセロトニン(5-HT)の機能を中心に概観することとする。

脳活動を可視化する(神経イメージング)技術の発達により、知覚や記憶や情動におけるヒトの基礎的機能をはじめ、他者の心的状態の推測<sup>1)</sup>、意思決定といった高次精神機能についての多くの知見が得られつつある<sup>2)</sup>。例えば、前頭前野の腹内側部に位置する前頭眼窩野(orbito-frontal cortex)は、刺激に対する反応とそれに伴う結果を統合することで、行為の報酬値(reward value)を更新する部位である。この前頭眼窩野の内側部を損傷すると、報酬値の更新を要する課題、たとえば囚人のジレンマゲームやギャンブル課題において、リスクが大ききとも短期的な報酬が大きい選択肢に固執し続けるようになる。この前頭眼窩野の損傷例においては、不適切な情動行動により仕事の維持が困難となるなど、社会的な行動障害が現れるようになる。

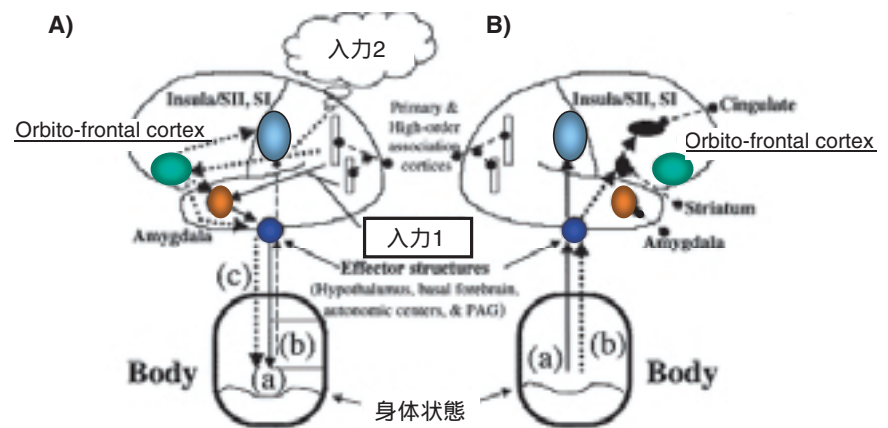
前頭眼窩野は内側部と外側部で機能が異なり、例えば、被験者にチョコレートを食べさせ $H_2^{15}O$ をトレーサーとして使用した陽電子断層撮像法(positron emission tomography: PET)を用いて脳活動を測定した実験では<sup>3)</sup>、食べるに従い低下していく報酬値に応じて内側部の活動が低下し、外側部が活性化することが確認されている。このように、前頭眼窩野は刺激・反応・結果のモニタリングに関与しており、その外側部はこれらの随伴関係の抑制、すなわち、すでに獲得した報酬への反応抑制に関わっていることがわかる。

さて、ここで意思決定において重要な役割を担う5-HTに関する報告をみてみよう。例えば、放射標識メチルトリプトファン( $-[^{14}C]methyl-L-tryptophan$ :  $-[^{14}C]MTp$ )を5-HTのトレーサーとして投与後、PETにより衝動抑制課題実行中の脳活動を測定した研究では、境界性人格障害者における課題成績は健常者のそれと比較して低く、それとともに前頭眼窩

野における5-HTの生合成が低下していることが確認されている<sup>4)</sup>。また、5-HTの前駆物質L-トリプトファン(L-tryptophan)枯渇法による研究では、5-HTの合成率の低下によるギャンブル課題の成績低下や、神経性大食症寛解患者における過食衝動の亢進が確認されている。これらのことから、衝動抑制機能の低下ならびに攻撃性の亢進は、前頭眼窩野の機能を修飾する5-HTの合成速度低下に伴うことが示唆される。

この5-HT系の候補遺伝子はおもに感情障害との相関が報告されており、例えば、セロトニン・トランスポーター(5-HT transporter: 5-HTT)の転写調節部位多型のs型が双極性障害において頻度が高いこと<sup>5)</sup>や、血小板への $[^3H]$ -paroxetine結合を指標とした検討により、大うつ病性障害の5-HTT機能が低下していることなどが報告されている<sup>6)</sup>。ここでは詳細は省くが、候補遺伝子によっては、疾患における脆弱性との相関を否定される多くの報告があるものの、少なくとも5-HT系の候補遺伝子が情動に関連しているであろうことは十分考えられる。

近年、刺激により喚起された身体反応(主に自律神経系反応)すなわち情動的反応の一種であるソマティックマーカー(somatic marker)が、意思決定を促進する重み付け信号であることが、Damasioらにより提唱されている<sup>7)</sup>。彼らによると、行為の選択や意思決定は、身体的・情動的側面から影響を受けているとされる。このソマティックマーカーが前頭眼窩野に表象され外部環境の認知と統合されることで、複数ある選択肢の中から、選択する行為がリスクをとともう価値のあるものかどうかの判断、すなわち報酬値の判断が速やかに実行されることになる。このソマティックマーカーに関与する脳部位は、前頭眼窩野をはじめ、大脳辺縁系に位置する扁桃体(amygdala)、視床下部(hypothalamus)並びに島皮質(insula)、体性感覚野(S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>)などである。環境から入力され視覚領域にて処理された刺激は、二つのルートを経て身体状態(ソマティックステイト: somatic state)を起動し、続いて中枢神経にフィードバックされた身体状態に関する情報は、前頭眼窩野にソマティックマーカーとして表象



図A. 棒線(a): 入力1により、扁桃体で刺激に対する粗い生物学的価値評価が行われ、その後視床下部を介して身体状態が起動されるルート、点線(b): 島皮質、体性感覚野への身体状態の表象、点線(c): 入力2により、前頭前野における刺激の認知的処理の結果に基づいて身体状態が起動されるルート

図B. 棒線(a): 島皮質、体性感覚野や前部帯状回の活性化による、身体状態や情動状態の主観的な知覚、点線(b): 前頭眼窩野において、意思決定の重み付け信号として表象される。

【参考文献8】 Bechara et al. (2002) の図より改変

され、意思決定の重み付け信号として利用されるのである<sup>8)</sup>(図A, B)。

私たちは、選択肢が多く、予測される結果も曖昧である社会的場面において、論理的な判断のみに依拠しない意思決定を行っているといえよう。すなわち、ヒトの意思決定には、ナイーブな身体反応から生じる情動が関わっており、私たちは社会的に適切な行動へと導かれていることになる。

#### 【参考文献】

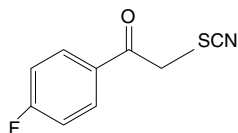
- 1) Nomura, M., Iidaka, T. and Kakehi, K. : *NeuroImage*, 6, 454( 2001 )
- 2) 野村理朗 : 感情心理学研究, 9, 50-62( 2002 )
- 3) Small, D.M., Zatorre, R.J., Dagher, A., Evans, A.C. and Jones-Gotman, M. : *Brain*, 124, 1720-33( 2001 )
- 4) Leyton, M., Okazawa, H., Diksic, M., Paris, J., Rosa, P., Mzengeza, S., Young, S.N., Blier, P. and Benkelfat, C. : *Am. J. Psychiatry*, 158, 775-782( 2001 )
- 5) Rotondo, A., Mazzanti, C., Dell'Osso, L., Rucci, P., Sullivan, P., Bouanani, S., Gonnelli, C., Goldman, D. and Cassano, G.B. : *Am. J. Psychiatry*, 159, 23-29( 2002 )
- 6) Strickland, P.L., Deakin, J. F., Percival, C., Dixon, J., Gater, R.A. and Goldberg, D.P. : *Br. J. Psychiatry*, 180, 168-173( 2002 )
- 7) Damasio, A.R. : *Philos. Trans. R. Soc. London*, 351, 1413-1404( 1996 )
- 8) Bechara, A., Dolan, S. and Hinds, A. : *Neuropsychologia*, 40, 1690-1705( 2002 )

## ビルディングブロック製品

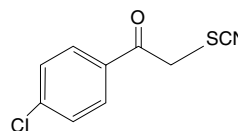


Synchem社は、アメリカイリノイ州のビルディングブロックのメーカーです。特に、製薬共通原料として典型的な汎用中間体を多く供給しています。カタログをご希望の方はお問合せ下さい。

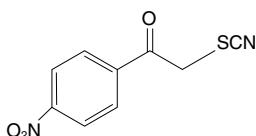
4-Fluorophenacyl thiocyanate, 95 + %  
メーカーコード: SC-15604  
CAS No.: 43045-16-5



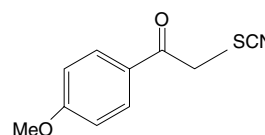
4-Chlorophenacyl thiocyanate, 95 + %  
メーカーコード: SC-15602  
CAS No.: 19339-59-4



4-Nitrophenacyl thiocyanate, 95 + %  
メーカーコード: SC-15606  
CAS No.: 6097-21-8



4-Methoxyphenacyl thiocyanate, 95 + %  
メーカーコード: SC-15608  
CAS No.: 6097-26-3

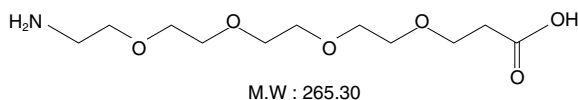


## PEG標識試薬

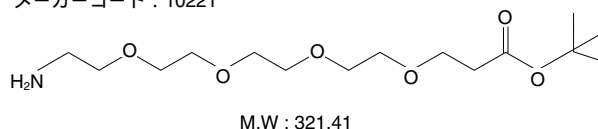


Quanta Biodesign社はアメリカオハイオ州のPEG試薬のメーカーです。かつてPEG標識はタンパク質の高機能化などで検討されましたが、最近コンビ合成での固相液相でもない特殊な用途も考えられます。

Amino dPEG<sub>4</sub><sup>TM</sup> acid  
メーカーコード: 10244



Amino-dPEG<sub>4</sub><sup>TM</sup> t-butyl ester  
メーカーコード: 10221



### 1 はじめに

ラジカル種によって誘起される環化反応(ラジカル環化反応)は環状化合物の有用な合成法として今や有機合成化学に定着している感がある。しかし、このラジカル環化反応には解決しなければならない課題も多く残されている。その一つは「位置化学の制御」であろう。たとえば、環化様式に二通りが考えられる場合(多くの場合そうであるが)、所望のラジカル環化反応のみを起こさせるにはどのようにすれば良いのであろうか。我々はこのような課題「ラジカル環化反応における位置化学の制御」に関する研究を行っている。本稿では、この課題における最近の研究成果を記し、また、その研究途上で必要となった「トリフルオロプロペニル化合物」の新合成法についても述べる。

### 2 単純オレフィンに対する *Endo* 選択的アリアルラジカル環化反応

オレフィン(  $X=CH_2, O, NR$  )のアリアルラジカル環化反応はすべて *exo* 型で進行し、5員環化合物2を与える。同様に、化合物3の環化反応も *exo* 型で進行して化合物4を与える<sup>1)</sup>。しかし、化合物3のアミドカルボニル基の位置を変えた化合物5は *endo* 型で環化反応を起こして6員環化合物6を与えることがわかった<sup>2)</sup>。この反応は、アリアルラジカルが単純オレフィンに対して *endo* 選択的に環化反応を起こした最初の例である。化合物3からは得ることのできな

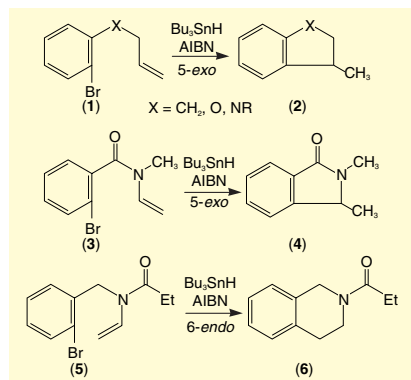


図1 .

いテトラヒドロイソキノリン類が化合物5の反応を用いることによって得られる。

では、何故、化合物3と5のラジカル環化反応の位置化学が異なるのであろうか? 化合物3および5のオレフィン部はアミドカルボニル基との立体反撥を避けるように、それぞれ図に示すような向き(コンフォメーション)が好ましいと考えられる(これは、<sup>1</sup>H NMRスペクトルによっても支持された)。そして、化合物3や5から生じたアリアルラジカルがオレフィン炭素の一番近いところと反応して化合物4や6を与えたものと考えられる。

### 3 ラジカルカスケードを用いる多環性化合物の合成

化合物5から6への反応を化合物7の反応に応用すると、ラジカルカスケード反応に基づく生成物9が得られた<sup>3)</sup>。化合物7のアリアルラジカル環化反応によって生じたアミドイルラジカル8の5-*endo*型ラジカル環化反応によって化合物9が生成したのと考えられる。アミドカルボニル基をもたないラジカル8は5-*endo*型環化反応を起こさない点は大変興味深い。

### 4 セファロタキシン骨格の短工程構築法

セファロタキシン(13)のエステル誘導体(たとえば、homoharringtonine)は強い抗

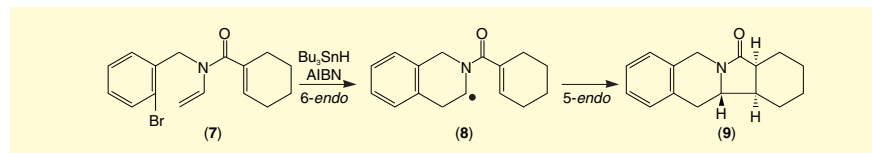


図2 .

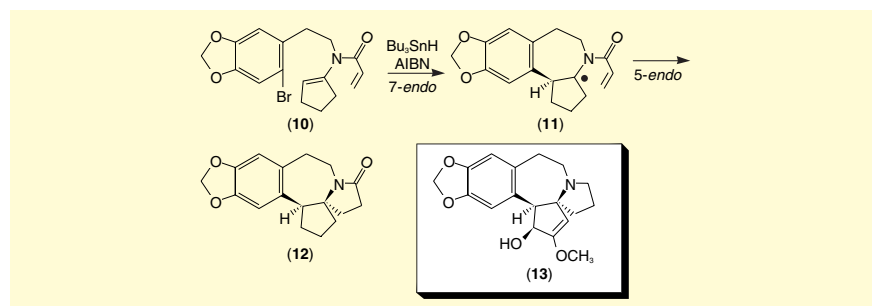


図3 .

白血作用を示すことが知られている。化合物5から6への *endo* 型環化反応を化合物10の反応に応用すると、セファロタキシンの基本骨格12が一挙に得られた<sup>4)</sup>。化合物10から発生したアリアルラジカル7の *endo* 選択的環化反応と、生じたアミドイルラジカル11の5-*endo* 型環化反応によって化合物12が生成したのと考えられる。

### 5 オレフィン部に硫黄原子を導入するとラジカル環化反応の位置化学が変わる

*Endo* 選択的アリアルラジカル環化反応を行う化合物5のオレフィン末端に2つのフェニルチオ基を導入すると、化合物14は *exo* 選択的に環化反応を起こして5員環化合物15のみを与えた<sup>5)</sup>。化合物14のオレフィン末端がかさ高いために化合物5のような構造をとれなくなって、*exo* 選択的に環化反応を起こしたのであろう。または、ラジカル環化反応によって生じた新たなラジカルがチオ基によって強く安定化を受けるため、化合物15が得られたとも考えられる。

### 6 マッピングケトンの合成

マッピングケトン(19)は抗ヘルペスウイルス活性を有する化合物である。化合物14から15への *exo* 選択的環化反応を化合物16

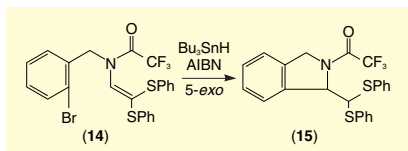


図4 .

の反応に応用すると化合物17が得られた。化合物17を化合物18へと導き、化合物18の光照射を行うと、自動酸化も同時に起きて、マッピングケトン(19)が一挙に得られた<sup>6)</sup>。

## 7 トリフルオロプロペニル化合物の新合成法

ラジカル20は、R = HやCH<sub>3</sub>の場合、ネオフィル転位反応を起こしてラジカル21を与える。しかし、R = SPhやCO<sub>2</sub>Et, CNの場合には、ラジカル20はネオフィル転位反応を起こさなかった<sup>7)</sup>。

次いで、R = CF<sub>3</sub>の場合の挙動について調べるため、化合物22を合成しようとしたところ、化合物22のようなトリフルオロプロペニル化合物の良い合成法が知られていないことがわかった。そこで、種々検討した結果、トリフルオロエチルジフェニルホスフィンオキシド(23)がテトラブチルアンモニウムフルオリド(TBAF)存在下、芳香族アルデヒド24とHorner-Wittig型の反応を起こしてトリフルオロプロペニル化合物25を収率良く与えることを見出した<sup>8)</sup>。

本反応は、残念ながら、ケトン類との反応ではうまく行かなかったので、化合物22を合成することはできなかったが、トリフルオロメチル(CF<sub>3</sub>)基は医薬品

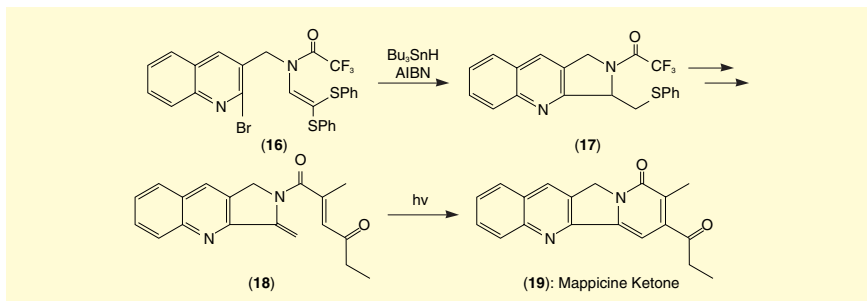


図5 .

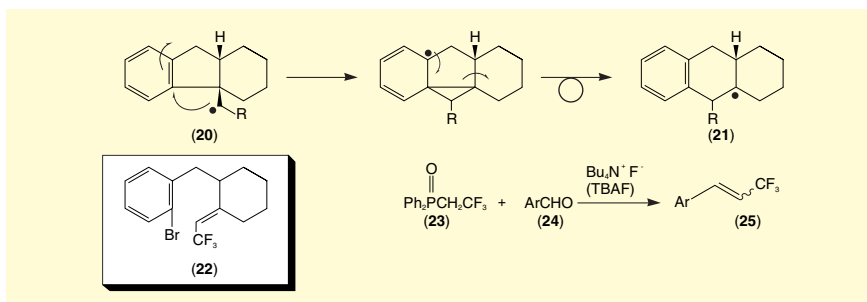


図6 .

や農薬の開発の面から大変興味深いものである。本反応を用いることにより有用な生理活性物質が生まれることを願っている。ホスフィンオキシド23は和光純薬工業(株)から市販されている。

### 【参考文献】

- 1) Ishibashi, H., Ohata, K., Niihara, M., Sato, T., Ikeda, M.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 547 (2000)
- 2) Ishibashi, H., Kato, I., Takeda, Y., Kogure, M., Tamura, O.: *Chem. Commun.*, 1527 (2000)
- 3) Ishibashi, H., Ishita, A., Tamura, O.: *Tetrahedron Lett.*, 43, 473 (2002)
- 4) Ishita, A., Uchiyama, M., Tamura, O., Ishibashi, H.: unpublished results.
- 5) Ishibashi, H., Kato, I., Takeda, Y., Tamura,

O.: *Tetrahedron Lett.*, 42, 931 (2001)

- 6) Kato, I., Higashimoto, M., Tamura, O., Ishibashi, H.: unpublished results.
- 7) Ishibashi, H., Kobayashi, T., Nakashima, S., Tamura, O.: *J. Org. Chem.*, 65, 902 (2000)
- 8) Kobayashi, T., Eda, T., Tamura, O., Ishibashi, H.: *J. Org. Chem.*, 67, 315 (2002)



### カスケードラジカル環化反応

ラジカルと分子内不飽和結合との反応によって生じたラジカルがさらに次の不飽和結合と反応することによって多環性化合物を与える反応のことをカスケードラジカル環化反応と呼ぶ。カスケードとは「滝」のことである。このタイプの反応を「縦並びの二頭引き馬車」にちなんでタンデムラジカル環化と呼ぶこともあるが、最近では余り使われない。

Products

Wako

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
043-28571 049-28573	Diphenyl(2,2,2-trifluoroethyl)phosphine Oxide	有機合成用	1g 5g	4,500 12,000
019-04932 013-04935	2,2'-Azobis(isobutyronitrile)	和光特級	25g 500g	900 2,900

### 1 はじめに

近年、地球規模で広がる環境への負荷をできるだけ軽減し、いわゆる環境に優しい化学合成、環境に優しい分子・反応の設計を目指してより良い環境を作るためにグリーンケミストリーへの取り組みが進んでいる。このような観点から相間移動反応は、水溶液中、常温、常圧、開放系で行なえるため、極めて工業化しやすい反応システムである<sup>1)</sup>。しかも、金属を使わないテトラアルキルアンモニウム塩を触媒として用いるため、地球環境にやさしい無公害型反応プロセスとなる。テトラアルキルアンモニウム塩( $R_4N^+X^-$ )は、そのイオン構造のため通常水溶性であるが、そのアルキル基が長鎖になると脂溶性が高まり有機溶媒にも可溶となる。この特性を相間移動触媒として利用することにより、各種の反応を常温でしかも水の存在下で行うことが可能となり、同時に反応速度の大幅な増大が期待できるようになる。更に、実験操作が非常に簡便となるなど、様々な合成化学的利点から、その後の活発な研究につながっていった。しかしながら、不斉合成のための効率良いキラル相間移動触媒の調製は容易ではなかった。唯一の成功例がシンコナアルカロイド由来のキラル相間移動触媒であった。しかしながら、これらは常に触媒設計における制限や触媒自体がホフマン脱離による分解などの欠点を有していた。こういった問題の抜本的な解決を計るため、(i)キラル源として両鏡像体が入手可能である；(ii)合理的な触媒設計の観点から $C_2$ 対称軸を導入する；(iii)ホフマン脱離をひき起こす水素が無い系を構築する、という三大前提で次世代のキラル相間移動触媒の創製に取り組んだ。ここでは、市販の安価なキラル有機分子としてのピナフトールから独自の発想に基づいて第四級スピロアンモニウム型キラル相間移動触媒1の設計と各種アミノ酸合成をはじめとする実用的不斉合成の最近の進展を紹介する<sup>2)</sup>。

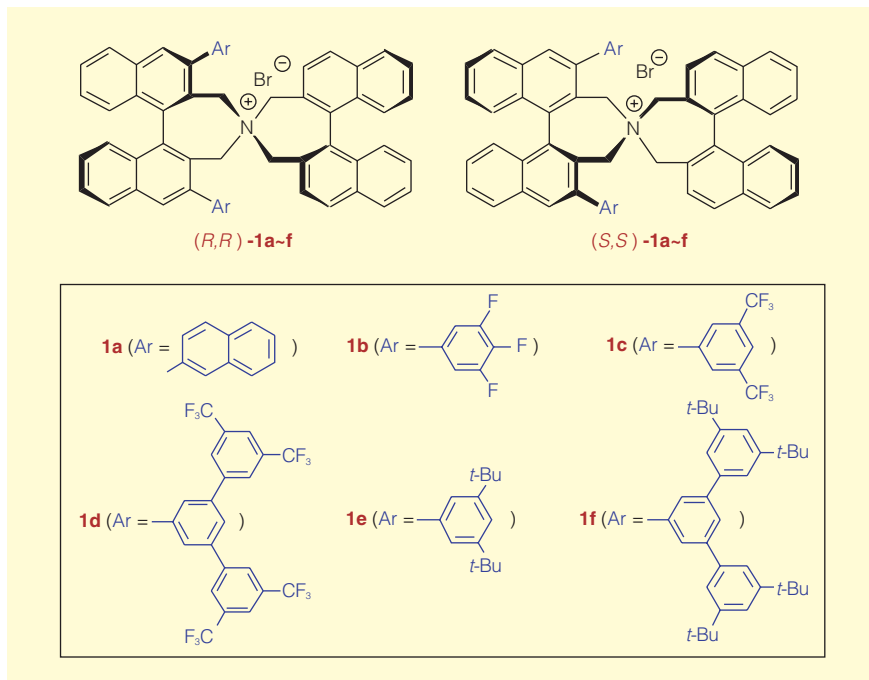


図1.

### 2 光学活性 $\alpha$ -モノアルキルアミノ酸の合成

$\alpha$ -ナフチル置換型のキラル相間移動触媒1aを1モル%用いてグリシン *tert*-ブチルエステルのベンゾフェノンイミンの不斉ベンジル化反応を相間移動条件下で行うと、

わずか30分後には収率95%、光学収率96%でフェニルアラニン誘導体が得られる。さらに3,4,5-トリフルオロフェニル基を導入したキラル相間移動触媒1bは、グリシン誘導体の不斉アルキル化反応において高い一般性を有することがわかり、わずか1モル%の触媒存在下、通常の相間移

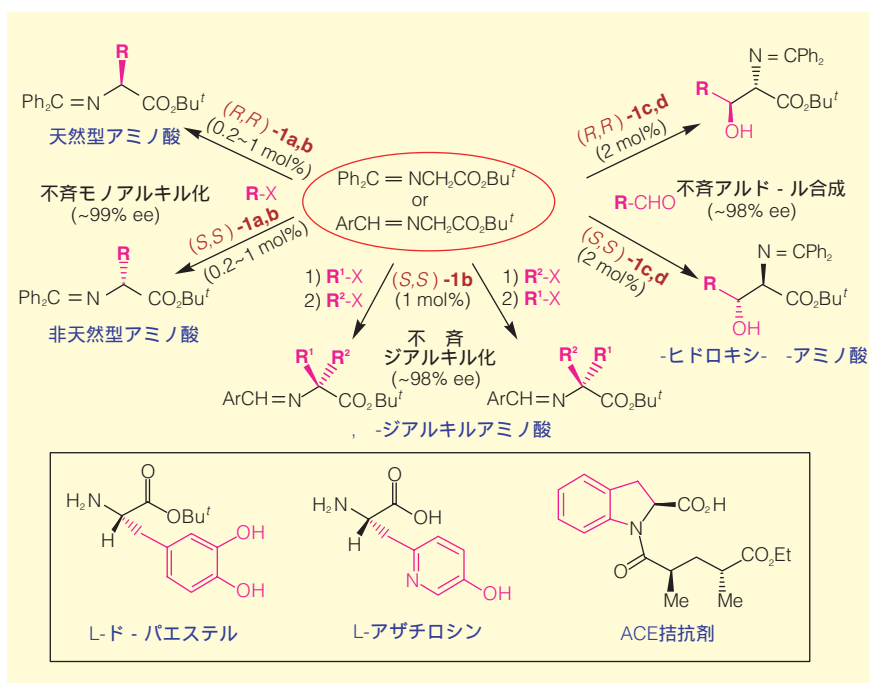


図2.



動反応条件下でほとんどの場合、99% ee という極めて高いエナンチオ選択性が認められた<sup>3,4)</sup>。本研究で編み出したスピロ型のキラル相間移動触媒1は、C<sub>2</sub>対称軸を有しているため、出発となる光学活性ピナフトールを使い分けることによって、(R,R)型、(S,S)型いずれのキラル相間移動触媒をも合成できるため、天然型、非天然型アミノ酸も含め、各種のアミノ酸誘導体やそれらの関連体(アミノアルデヒド、アミノケトンやアミノアルコールなど)の不斉合成に極めて有効であることがわかる。例えば、生理活性アミノ酸として<sup>5)</sup>、パーキンソン病の治療薬L-ドーパ<sup>6)</sup>、抗生物質L-アザチロシン<sup>7)</sup>、ACE阻害剤などが容易に合成できる。

### 3 光学活性、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸の合成

光学活性、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸は天然に存在しないものの、ペプチドの修飾や酵素の阻害剤あるいは不斉合成における有用なキラル素子として高い潜在需要を持っている。従来は、光学活性、 $\beta$ -モノアルキルアミノ酸から化学量論的に、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸へと変換されていた。一方、より効率的な触媒法の開発も試みられたが、実用性の点からはほど遠いものがあつた。こういった状況で、私どもの研究室では最も直截的な光学活性、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸の触媒的不斉合成プロセスの確立に取り組んだ。すなわち、グリシンから出発して、グリシンエステルのアルデヒドイミンに変換し、それをキラル相間移動触媒を用いた相間移動条件下、二種の異なるアルキルハライドを加えて同一容器内で連続的に不斉二重アルキル化反応を行なうものである。得られたジアルキル化体は酸処理によって、容易に光学活性、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸へと導ける。この手法の利点は、同じ触媒を用いても、二種の異なるアルキルハライドの加える順序を入れ替えば、両方のエナンチオマーが合成できることである。また、アラニンやバリン等の $\beta$ -アルキルアミノ酸の不斉モノアルキル化によっても、高選択的に光学活性、 $\beta$ -ジアルキルアミノ酸が得られる<sup>8)</sup>。

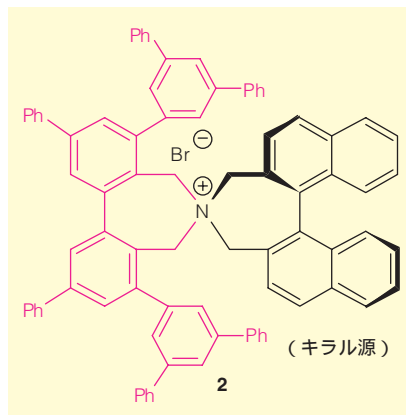


図3.

### 4 スピロ型キラル相間移動触媒の単純化

さて、スピロ型キラル相間移動触媒のデザインにおいて、これまでは二つのピナフチル基は、ともに同じ絶対配置のものを用いてきた。このようなホモキラル触媒に比べ、二つのピナフチル基の絶対配置が互いに異なるヘテロキラル型を用いた場合、不斉アルキル化の反応性、選択性は著しく低下してしまう。この実験結果は、別の見方をすると反応系にホモキラル触媒とヘテロキラル触媒が混在していても、活性の高いホモキラル触媒が主にグリシン誘導体の不斉アルキル化に関与し、活性の極めて低いヘテロキラル触媒は、反応においてほとんど悪影響を及ぼさないことが推察される。言い換えれば、キラル素子として無置換型ピナフチル基がひとつあれば、もう一方のピナフチル基を適宜修飾することに

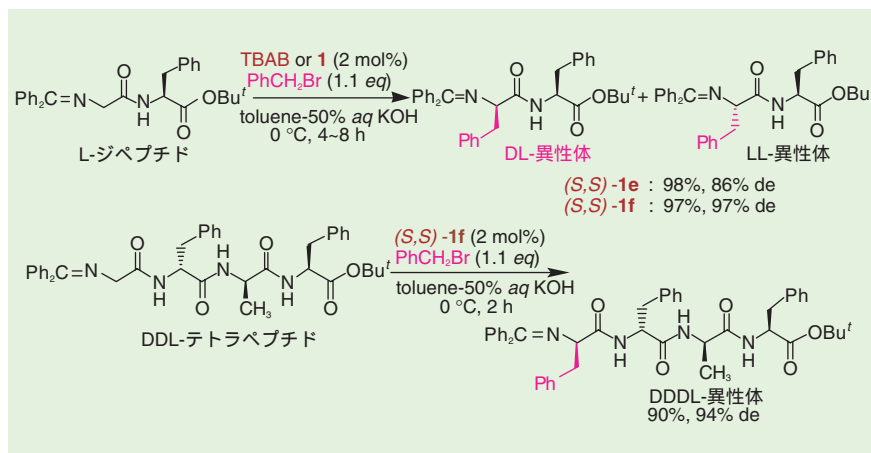
よって望ましいスピロ型キラル相間移動触媒がデザインできる可能性を示唆しており、更にピナフチル基より先配座的により柔軟性のあるピフェニル基を用いた触媒2で高い選択性(95% ee)が得られている<sup>9)</sup>。

### 5 直截的な不斉アルドール合成

グリシンエステルとアルデヒドとのアルドール反応によって生成する  $\beta$ -ヒドロキシ- $\beta$ -アミノ酸は、生理活性ペプチドの重要なキラルユニットとして、また、不斉合成におけるキラル素子としても有用である。従来、こういった  $\beta$ -ヒドロキシ- $\beta$ -アミノ酸は、酵素、L-トレオニナルドラーゼを用いて極微量合成されており、実用的見地からはほど遠いものであつた。しかしながら、スピロ型キラル相間移動触媒1cや1dを2モル%存在下、トルエン/1%水酸化ナトリウム水溶液の二層系でグリシンエステルのシッフ塩基とアルデヒドを直接、混合させることにより、アルドール反応が進行して  $\beta$ -ヒドロキシ- $\beta$ -アミノ酸エステルが高収率で生成した。その際、主生成物であるアンチ異性体が高エナンチオ選択的に得られる<sup>10)</sup>。

### 6 ペプチド類の末端官能基化

さて、これまでグリシンや  $\beta$ -置換アミノ酸の *tert*-ブチルエステルを出発とした不斉合成について述べてきたが、このような反応をアミドにも拡張できればペプチドの末



式1.

端アルキル化も可能になり、本法の有用性がさらに広がることが期待される。試みにジペプチドのベンジル化をBu<sub>4</sub>NBr存在下で行うと、ほとんど選択性が見られない。L体のアミノ酸を含む基質に対しては、(S,S)-1型触媒がマッチする。特に、3,5位にかさ高い置換基をもつフェニル基を導入した(S,S)-1eや(S,S)-1fを用いると選択性が97% deまで向上する<sup>11)</sup>。この触媒(S,S)-1fは、オリゴペプチド類の選択的末端アルキル化にも適用できる。

## 7 -ケトエステル類の不斉アルキル化

キラル相間移動触媒1はアミノ酸関連基質の不斉合成に極めて有用であるが、最近、その他の基質を用いても高いエナンチオ選択性を発現することが見いだされている。例えば、-ケトエステルの不斉アルキル化がキラル相間移動触媒1の存在下、高エナンチオ選択的に進行する。

## 8 終わりに

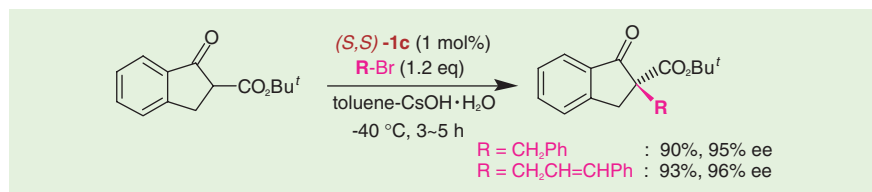
以上、私どもが現在取り組んでいるキラル相間移動触媒を用いる触媒的不斉合

成に関する最近の進展を紹介した。従来、汎用されてきたシノコナルカロイド由来のキラルアンモニウム塩に較べ、光学活性ピナフトール由来のスピロ型キラル相間移動触媒1は、わずか0.2~2モル%で充分、不斉反応が行なえるという点は特筆すべきであろう。このキラル触媒1を用いる不斉合成研究を進めていくにつれて、相間移動反応の化学に関する新しい知見が得られ、キラル触媒のさらなる改良が行なわれているが、紙面の関係で割愛せざるを得ないのは残念である。

触媒的不斉合成の分野において、近年、不斉炭素中心構築のための方法論は著しい進歩を遂げている。その中でも複雑な操作を必要としない相間移動条件下での触媒反応は、実用化が極めて容易であり、工業的な面からも大いに注目されている。今後、相間移動条件下での高い一般性と実用性を兼ね備えた不斉合成反応が次々と開発され、それらが医薬品に代表される有用化合物の大量合成プロセスの確立に大きく寄与することが期待される。

## 【参考文献】

- 1) (a) Sasson, Y., Neumann, R.: "Eds. Handbook of Phase Transfer Catalysis", Blackie Academic & Professional, London(1997). (d) Halpern, M. E., Ed.: "Phase Transfer Catalysis", ACS Symposium Series 659, American Chemical Society, Washington, DC(1997).
- 2) Maruoka, K., Ooi, T.: *Chem. Rev.*, in press.
- 3) Ooi, T., Kameda, M., Maruoka, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 6519(1999)
- 4) Ooi, T., Takahashi, K., Doda, K., Maruoka, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 7640(2002)
- 5) Maruoka, K.: *J. Fluorine Chem.*, 112, 95(2001)
- 6) Ooi, T., Kameda, M., Tannai, H., Maruoka, K.: *Tetrahedron Lett.*, 41, 8339(2000)
- 7) Ooi, T., Uematsu, Y., Maruoka, K.: *Advanced Synth. Cat.*, 344, 288(2002)
- 8) Ooi, T., Takeuchi, M., Kameda, M., Maruoka, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 5228(2000)
- 9) Ooi, T., Uematsu, Y., Kameda, M., Maruoka, K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 1621(2002)
- 10) Ooi, T., Taniguchi, M., Kameda, M., Maruoka, K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 4542(2002)
- 11) Ooi, T., Tayama, E., Maruoka, K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 42, 579(2003)



式2 .



### 相間移動触媒

テトラアルキルアンモニウム塩(R<sub>4</sub>N<sup>+</sup>X<sup>-</sup>)はイオン構造のため通常水溶性であるが、そのアルキル基が長鎖になると水相と有機相の間を行き来できるようになる。この特性を利用すると水溶性無機塩を有機相に移して、有機溶媒中で反応速度を著しく増大させることが可能になる。

Products

光学活性相間移動触媒

Wako

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-14921 025-14923	(R,R)-3,5-Bistrifluoromethylphenyl-NAS Bromide	有機合成用	100mg 500mg	30,000 照会
201-15921 207-15923	(R,R)-3,4,5-Trifluorophenyl-NAS Bromide	有機合成用	100mg 500mg	30,000 照会

### はじめに

総量規制とは水質汚濁防止法に基づき、発生源からの汚濁物質を削減するための制度である。

この規制は特に、水質汚濁が深刻な閉鎖性海域である東京湾、伊勢湾および瀬戸内海を指定水域として定め、これら指定水域への流入域である20都府県の関係地域が指定地域とされ、昭和54年以来4次にわたり、COD（化学的酸素要求量）を指標の対象として総量規制が実施されている。

第4次総量規制の削減基本方針では、生活排水や産業排水の対策に強化を図ることで、平成7年度を初年度とし、平成11年度を目標年度により一層のCODの削減を進めてきた。

その結果、CODの削減には成果をあげてはいるものの、依然として環境基準の達成率はあまり芳しくなく、より効果的な汚濁物質の流入を削減するために、第5次総量規制ではCODのこれまで以上の削減を図るとともに、赤潮、貧酸素水塊の発生源として今日問題になっている富栄養化の要因である窒素とりんに対しても規制の対象と指定され、これまでより効果的に環境基準の達成が見込まれる。（環境省資料抜粋）

### 概要

第5次総量規制に関連した国の政令が平成13年11月までには公布され、これを

もとに指定地域（指定水域への流入に係わる地域）では、各都道府県（自治体）が定められた業種に関して、定められた測定範囲内で平成14年3月を目処に総量削減計画および総量規制基準を策定し、環境大臣の承認を得て7月から随時公示された。このことにより指定地域の一定規模以上（平均的な排水の量が50m<sup>3</sup>/日）の工場・事業場では排水のCOD、窒素およびりんの負荷量を測定し、その結果を保存し自己管理を行なう必要がある。

第5次総量規制が開始され、新事業所については平成14年度10月より、概設事業所については平成16年4月より適用されることとなる。

特定排水の窒素及びりんの測定に関しては、今回の第5次総量規制により、指定地域内の日平均排水量400m<sup>3</sup>以上/日工場・事業場においては毎日必要となり、一般的に連続的な計測を可能とした自動計測器を用いて測定を行なうか、JIS K0102指定計測法により計測を行なわなければならない。

また日平均排水量400m<sup>3</sup>未満/日工場・事業場においても、排水量の区分に応じて、定められた期間内に測定する必要がある。（表1）

特定排水のCODに関しては、第4次総量規制の区分と同一であるが、総量規制制度に係わる区分ごとの範囲については、基本的に発生負荷量が大きい業種、第4次の時点で規制基準が依然と高いレベルにある業種などを対象として総量規制基準の強化が行なわれている。

また日平均排水量400m<sup>3</sup>以上/日工場・事業場においては、原則として自動計測器を用いて計測するものとされている。

### 総量規制制度における全窒素・全りん自動計測器

特定排水の窒素およびりんに関する負荷量を測定するために用いられる自動計測器は、計測方法に関する規定は特に無く、自動的に特定排水中の窒素およびりんの含有量（濃度）を測定出来、自動的に計測結果を記録出来る機能を持っている機器であれば、方法を問わず使用することが可能である。

但し、自動計測器を使用する際には、正確な計測値を得る必要があるため下記の性能基準および管理基準を満足することが必要である。（表2）

#### 性能基準

導入時にゼロ校正液、標準試料溶液および実試料による測定値の評価

#### 管理基準

稼働時にゼロ校正液、標準試料溶液および実試料による測定値の評価

窒素およびりんの自動計測器における計測値は、基本的にはこれまでのCOD計測器と同様であるが、計測値の求め方には若干の違いがある。CODの測定は絶対値ではないため自動計測器での計測値は、指定計測法による計測値からの換算式によってCOD値として求めることとされている。そのためにUV計・TOC計・TOD計などで求めることが可能

表1. 特定排水の窒素およびりんに関する汚染状態の計測方法

排水量区分 (m <sup>3</sup> /日)	水質の計測方法	水量の計測方法	排水の期間 (測定の期間)
400以上	1) 自動計測器により計測する方法 2) コンポジットサンプラーにより採水し、指定計測法で計測する方法	1) 流量計または流速計により計測 2) 積算体積計により計測	毎日 (毎日測定)
200以上～ 400未満	1) 自動計測器により計測する方法 2) コンポジットサンプラーにより採水し、指定計測法で計測する方法 3) 指定計測法 (JIS0102) により計測する方法「2)の方法を除く」	1) 流量計または流速計により計測 2) 積算体積計により計測 3) JIS K0094の8により計測	7日 (1回以上/7日)
100以上～ 200未満			14日 (1回以上/14日)
50以上～ 100未満			30日 (1回以上/30日)

表2. 特定排出水の窒素およびりんに関する汚染状態の計測方法

計測対象	測定回数	繰返し計測における許容差	
		性能基準	管理基準
ゼロ校正液	3回以上	自動計測器による各計測値とその平均値との差が最大目盛値の±5%以内	自動計測器による各計測値とその平均値との差が最大目盛値の±5%以内
標準試料溶液	3回以上	自動計測器による各計測値の平均値と標準試料溶液 <sup>*1</sup> 濃度との差が、標準試料溶液濃度の±10%以内または±0.05mgN/ℓ以内	自動計測器による各計測値の平均値と標準試料溶液 <sup>*1</sup> 濃度との差が、標準試料溶液濃度の±15%以内または±0.1mgN/ℓ以内
実試料	3回以上	指定計測法（JIS K0102）による測定値（3回以上）の平均値と自動計測器による計測値の平均値との誤差率 <sup>*2</sup> が±10%以内または±0.05mgN/ℓ以内	指定計測法（JIS K0102）による測定値（3回以上）の平均値と自動計測器による計測値の平均値との誤差率 <sup>*2</sup> が±15%以内または±0.1mgN/ℓ以内

\*1 標準試料溶液

窒素計測用:L-グルタミン酸と硫酸アンモニウム混合液

りん計測用:アデノシン5'-三りん酸二ナトリウム三水和物とフェニルりん酸二ナトリウム混合液

\*2 誤差率(%) =  $\frac{〔自動計測器による計測値の平均値〕 - 〔指定計測法による測定値の平均値〕}{〔指定計測法による測定値の平均値〕} \times 100$

表3. 全窒素・全りん自動計測器の主な計測法

窒素の計測法	りんの計測法
1.アルカリ性ペルオキシニ硫酸カリウム分解（120 30分） 紫外線吸光度法 2.アルカリ性ペルオキシニ硫酸カリウム・紫外線酸化分解 紫外線吸光度法 3.接触熱分解法 化学発光法（ケミルミ法）	1.ペルオキシニ硫酸カリウム分解（120 30分） モリブデン青吸光度法 2.ペルオキシニ硫酸カリウム・紫外線酸化分解 モリブデン青吸光度法

である。一方窒素およびりんの自動計測器における計測値は、絶対値であるため、計測値をそのまま用いることが出来る。

総量規制を対象とした計測器として、窒素とりん単体での自動計測器を採用するところは少なく、主流としては窒素とりんが一体化された計測器である。総量規制の測定対象である窒素とりんは排出水に含まれる無機および有機物全ての窒素とりんが対象であるため、全窒素および全りんと呼ばれ、通常各社の窒素・りん自動計測器は一律に「全窒素・全りん自動計測器（測定装置）」と名称されている。

### 全窒素・全りん自動計測器の計測方法

以前は指定計測法をそのまま自動化にした計測器が、指定計測法による測定値との誤差が少ないとされ、主流であったが、現在は計測方法に関する規定等がないこともあり、各社自動計測器として継続性や試薬の消費量、各種排出水に適した測定方式などいくつかの測定方式が採用されている。（表3）

総量規制適用の「全窒素・全りん自動計測器」は各社から販売されており、測

東亜ディーケーケー全窒素・全りん/COD自動測定装置〔NPW-150〕  
 公定法採用（JIS法準拠）の防滴形コンパクト設計



定方式が同じでも各社独自のメリットを  
出すために、それぞれに工夫がこらされ、

最近ではCOD (UV法) までもが一体化  
(窒素・りん/COD (UV) の3成分) し

た計測器も登場している。

## Products



### 全窒素・全りん測定装置専用試薬

#### 東亜ディ-ケ-ケ-全窒素・全りん測定用試薬

#### NPW-150 全窒素・全りん/COD自動測定装置用

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
149-07641	NPW-150 2w/v%ペルオキシニ硫酸カリウム溶液	3ℓ	10,000
148-07655	NPW-150 モリブデン酸アンモニウム混合液	500ml	3,500
145-07665	NPW-150 1.15w/v%L(+ )アスコルビン酸溶液	500ml	2,500
149-07685	NPW-150 8w/v%水酸化ナトリウム溶液	500ml	3,500
142-07675	NPW-150 塩酸(1+7.5)	500ml	2,500

#### TNP-201 全窒素・全りん自動測定装置用

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
208-15791	TNP-201 分解液 1	2.5w/v%ペルオキシニ硫酸カリウム溶液	4ℓ	11,000
201-15801	TNP-201 分解液 2	硫酸(1+3)	1ℓ	3,500
208-15811	TNP-201 発色液	モリブデン酸アンモニウム混合液	4ℓ	10,000
205-15821	TNP-201 還元液	0.83w/v%L(+ )アスコルビン酸溶液	6ℓ	6,500

### 横河電機全窒素・全りん測定用試薬

#### NP600形全窒素・全りん自動測定装置用

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
146-07531	NP600 A液	1.5w/v%ペルオキシニ硫酸カリウム溶液	1ℓ	4,500
144-07711	NP600 B- 液	4w/v%水酸化ナトリウム水溶液	250ml	2,000
144-07571	NP600 C液	硫酸(1+3)	250ml	2,000
140-07551	NP600 D液	2.4w/v%L(+ )アスコルビン酸溶液	250ml	2,500
147-07561	NP600 E液	モリブデン酸アンモニウム混合溶液	250ml	3,500
141-07721	NP600 F液	塩酸(1+6)	250ml	2,000

\*平成14年11月以降に販売された横河電機製NP600形全窒素・全りん自動測定装置にてご使用頂けます。

#### NP1000形全窒素・全りん自動測定装置用

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
033-18587	キャリア液	0.001mol/l 硫酸	20ℓ	9,000
187-01747	反応液1	0.04mol/l 水酸化ナトリウム溶液	10ℓ	8,000
184-01757	反応液2	0.4mol/l 硫酸	10ℓ	8,000
181-01767	反応液3	モリブデン酸アンモニウム混合液	20ℓ	16,000
188-01777	反応液4	精製水	19.5ℓ	6,000
162-20637	0.04mol/l ペルオキシニ硫酸カリウム溶液	0.04mol/l ペルオキシニ硫酸カリウム溶液	10ℓ	15,000
019-19165	0.6mol/l L(+ )アスコルビン酸溶液	0.6mol/l L(+ )アスコルビン酸溶液	500ml	5,000

## Presep®-C DNPHショートタイプの開発

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 久保田 守

ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドなどのアルデヒド類は悪臭防止法(環境省)、大気汚染防止法(環境省)、シックハウス(室内空気汚染)に係るガイドライン(厚生労働省<sup>1)</sup>)として大気および室内空気中の許容濃度、標準的な測定法が定められている。

このうち空気サンプリング、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)との誘導体化には、DNPHコーティングされたシリカゲルをカートリッジカラムに充填した捕集管が可搬性や操作性が優れていることから多く用いられている。

空気サンプリングを行うには、上記捕集管と必要に応じて前段にオゾン除去管(大気(外気)の場合)を接続後、吸引ポンプに取付け、所定の時間を一定流速で捕集管に空気を通して試料を捕捉する。公定法では、大気(外気)、居住住宅の場合、流速0.1ℓ/minで24時間の計144ℓ、新築住宅では、流速1.0ℓ/minで30分の計30ℓを採取する。

しかし、吸引能力の低いポンプや背圧の高い捕集管を使用すると、所定の流速で吸引が出来ない、流速が安定しない、高湿度下での採取中に捕集管内で水分が

凝集して測定中にポンプ停止などのトラブルが発生することがある。当社の捕集管Presep®-C DNPH、オゾン除去管Presep®-C Ozone Scrubberを用いて空気サンプリングを行った時の背圧プロットをFig.1に示した。点線が示す値は、実験に用いた空気サンプリング用ポンプ(柴田科学製MP-30、MP-300)の定流量差圧上限値である。流速0.1ℓ/minで吸引を行った場合、Presep®-C DNPH + Ozone Scrubberはポンプ定流量差圧上限値より低く、安定した試料採取が期待できる。他社品との比較結果でも当社は低い背圧値であることが判る。Presep®-C DNPHは流速1.0ℓ/minにすると上記ポンプの運転上限を越えるが、同流速下でのホルムアルデヒド、アセトアルデヒド標準品添加回収率は94~98%であり、高い捕集効率を有している。

流速1.0ℓ/minでサンプリングを行う際には、Presep®-C DNPH(Short)(仮称)を使用する。本品は現在製品化に向け開発中の品目で、充填量がPresep®-C DNPHの約半分、基材シリカゲルの粒子サイズ、フィルター素材や貫通孔サイズなど大幅な変更が施され、高流量サンプリングに

十分適用するよう設計されたものである。ショートタイプ試作品での背圧プロットをFig.2に示す。本品単独使用の場合、流速1.0ℓ/minで約2MPaの低背圧値を実現した。

さらにPresep®-C DNPH/DNPH(Short)は低ブランク値、ロット内ブランク値のパラッキを最小限にするなどの特長を持つ。

以上、Presep®-Cシリーズについて、環境/室内空気中のホルムアルデヒド、アセトアルデヒド測定関連公定法での空気サンプリングへの適応性について述べた。また、Wakosil-DNPH分析システムとの組合せでアルデヒド、ケトン類の高速液体クロマトグラフィー(HPLC)での短時間多成分一斉分析への応用も可能である。実地調査やアルデヒド類研究での一助になれば幸いである。

### 【参考文献】

- 1) 室内空気中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法について、厚生省(現厚生労働省)、生衛発第1093号通知

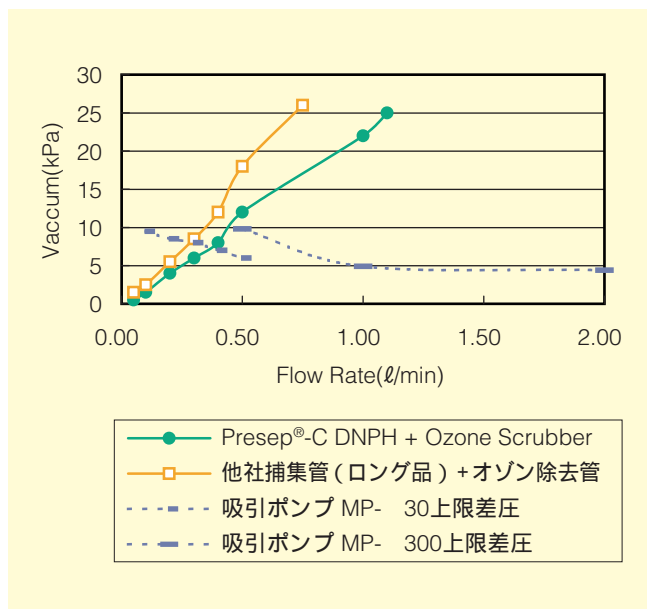


Fig.1 . アルデヒド捕集管 + オゾン除去管背圧プロット

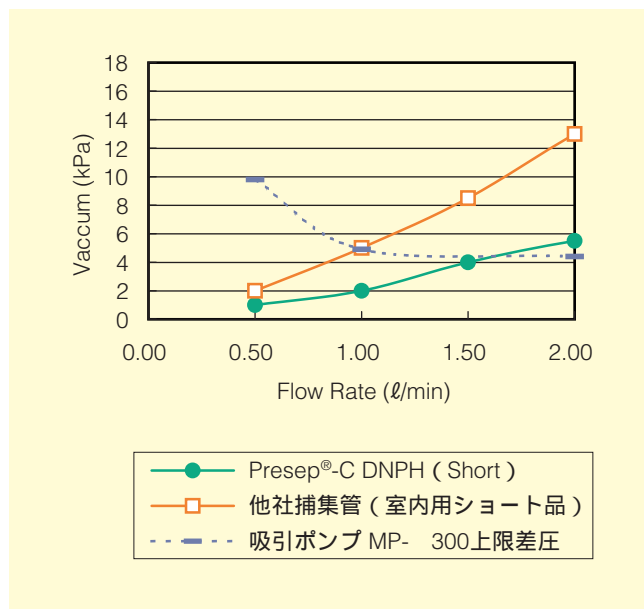


Fig.2 . アルデヒド捕集管ショートタイプ背圧プロット

## ダイオキシン類分析用 プレセップ® 多層シリカゲル

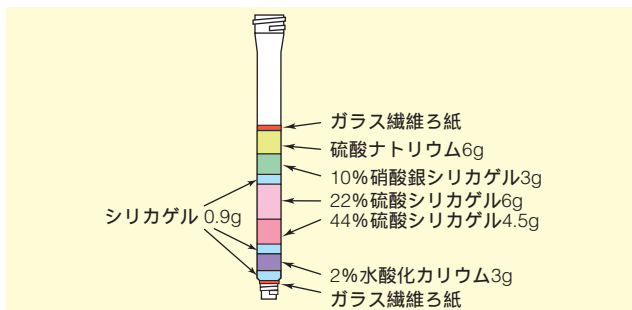
ダイオキシン類分析の前処理工程のひとつとして、測定試料中に共存している含硫黄化合物や多環芳香族炭化水素類、着色物質などの夾雑物を効率良く除去するため、各種化学修飾シリカゲルを積層した多層シリカゲルカラムを用いたクリーンアップが行われます。しかし、これに使用する多層シリカゲルカラムを調製するための充てん操作は、非常に煩雑です。

このたび当社では、ご好評いただいております各種化学修飾シリカゲルをガラスカラムに積層した製品を発売しました。

### 特長

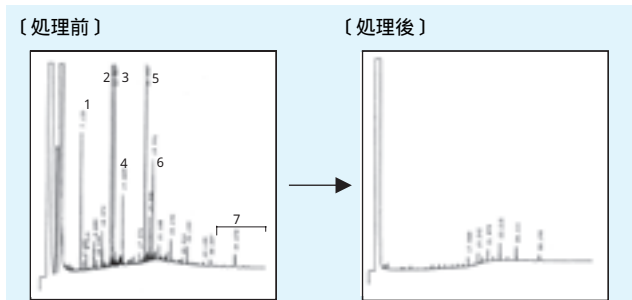
- JIS-K0311、JIS-K0312に準じた設計
- カラム管内径15mm
- 充てんの手間を簡略化
- 実用試験を実施
- 個別アルミパック包装を採用
- 必要な個数だけ使用可能

### ガラスカラム見取り図



### 使用例

本品を用いた土壌抽出試料のクリーンアップの一例



1. 2,4,6-Trichlorophenol 2. Propylamide 3. Anthracene 4. N,N-Bis(1-methylethyl)benzamide 5. Lenacil 6. Bis(2-ethylhexyl)phthalate 7. Terpenes

### 〔操作方法〕

- 100mlのダイオキシン類分析用ヘキサンを本品に通液し、コンディショニングを行う。
- アントラセン20μg、トリクロロフェノール10μgを添加した土壌抽出試料1mlをカラム層上部にチャージする。
- ダイオキシン類分析用ヘキサン200mlを通液し、クリーンアップを行う。
- 処理液を濃縮し、FID-GC法で測定する。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
295-41651	Presep® Multilayer Silica Gel	ダイオキシン類分析用	5本	18,000

### 関連製品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
167-19251	2% Potassium Hydroxide-impregnated Silica Gel	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
197-11611	10% Silver Nitrate-impregnated Silica Gel	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
194-11621	22% Sulfuric Acid-impregnated Silica Gel	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
191-11631	44% Sulfuric Acid-impregnated Silica Gel	ダイオキシン類分析用	100g	17,000
194-12221	Sodium Sulfate	ダイオキシン類分析用	250g	3,400
238-01781	Wakogel® DX	ダイオキシン類分析用	100g	6,500

## アルデヒド分析用前処理カラム プレセップ®-C DNPH

本品は、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カートリッジカラムです。大気中のアルデヒドの捕集およびDNPH誘導体化に最適です。

## プレセップ®-C オゾンスクラバー

本品は、高純度ヨウ化カリウムを充てんしたカートリッジカラムです。アルデヒドの捕集およびDNPH誘導体化を妨害するオゾンの除去に最適です。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
290-34251	Presep®-C DNPH	試料前処理用	20個	29,000
293-40351	Presep®-C Ozone Scrubber	試料前処理用	20個	13,500

## アルデヒド分析用HPLCカラム ワコーパック® WS DNPH-

本品は、DNPHアルデヒド分析専用カラムであり、米国EPAで規制されている15成分を20分以内に分離することが可能です。

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak® WS DNPH-	4.6 × 150mm	デュポン	ワGD	60,000
		ウォーターズ	ワGW	

### 専用溶離液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
236-02181	Wakosil DNPH- Eluent A	HPLC用	1ℓ	6,000
233-02191	Wakosil DNPH- Eluent B	HPLC用	1ℓ	6,000



## 超微粒金属石けん

本品は、平均粒径が非常に小さい全く新しいタイプの金属石けんです。粒子や溶剤に対して、高い流動性、ブロッキング防止性、分散安定性、増粘性などの特性を付与することができます。

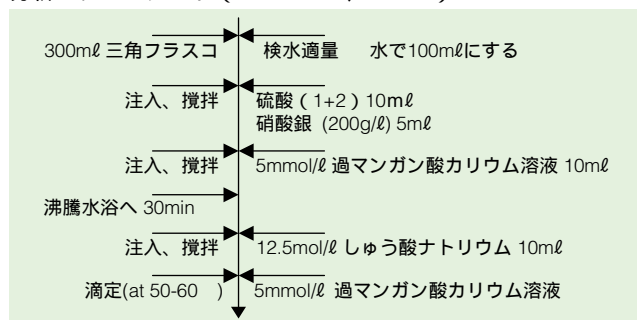
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
033-18722	Calcium Stearate, 2.0μm	-	25g	5,000
035-18721		-	100g	14,500
134-14322	Magnesium Stearate, 3.0μm	和光一級	25g	5,000
136-14321		和光一級	100g	14,500
269-01672	Zinc Stearate, 1.5μm	和光特級	25g	5,000
261-01671		和光特級	100g	14,500



## COD測定試薬

水質汚濁物質のひとつとして、家庭や工場から排出される有機物をはじめとする還元性物質があげられます。この還元性物質を測定する方法として、過マンガン酸カリウム溶液を用いた滴定法がJIS-K0101（工業用水試験法）、JIS-K0102（排水試験法）に公定法として記載されています。当社では、これらの公定法のCOD分析に対応した商品を取揃えております。

分析のフローシート（JIS-K0101、K0102）



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
161-08225	0.005mol/l Potassium Permanganate Solution (N/40)	容量分析用	500ml	1,150
169-08221			3l	5,800
199-07065	0.0125mol/l Sodium Oxalate Solution (N/40)	容量分析用	500ml	1,050
197-07061			3l	5,500
195-07067			10l	照会
193-08705	47% Sulfuric Acid (1+2)	-	500ml	1,000
197-08708			20l	照会
190-10702	Silver Nitrate	COD測定用	25g	2,500
194-10705			500g	26,000
195-12795	20w/v% Silver Nitrate Solution	COD測定用	500ml	12,000

NEW

## 環境分析用



### 5w/v% 食塩水

環境中に放出された多様な環境汚染化学物質によって、ヒトや野生生物の内分泌系が攪乱されている可能性が指摘されており、それらの化学物質の同定や生体に対する各種毒性作用の機構解明の研究がすすめられています。分析・研究の対象となる検体は、河川水、底質土壌、食品、生体試料など多岐にわたります。

本品は、食塩水中の不純物をヘキサソ抽出法によって除去しておりフタル酸エステル類、アルキルフェノール類、ベンゾ(a)ピレンなどの内分泌攪乱物質の濃度をGC/MS試験によって保証しています。底質土壌や生体試料などの分析の前処理に安心してお使いいただけます。

### 規格

濃度(20℃) : 4.5~5.5w/v%

内分泌攪乱物質分析適合性 : 試験適合

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
190-12821	5w/v% Sodium Chloride Solution	環境分析用	1l	3,000

## 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
041-28055	Dichloromethane	環境分析用	500ml	2,600
043-28375	Dichloromethane	エストラジオール分析用	500ml	2,700
048-28065	Diethyl Ether	環境分析用	500ml	4,200
055-06895	Ethanol	環境分析用	500ml	4,000
084-07985	n - Heptane	環境分析用	500ml	4,000
085-07655	n - Hexane	環境分析用	500ml	1,800
135-13855	Methanol	環境分析用	500ml	1,800
134-14285	Methyl Acetate	環境分析用	500ml	4,000

## 薄層クロマトグラフィー シリカゲル70PF<sub>254</sub>プレートワコー

薄層クロマトグラフィーは非常に簡便な分析方法であり、多くの成分の分析～分取に使用されています。このたび、ご好評いただいています、シリカゲル70プレートシリーズに分取用TLCプレート「シリカゲル70PF<sub>254</sub>プレートワコー」を追加しました。細孔径7nmの粒子の揃った多孔質シリカゲルを採用、固着剤の量を極限まで減らしたことにより、サンプルの採取を容易に行うことが可能です。

## 物性

シリカゲルの粒子径 : 5~40µm

シリカゲルの細孔直径 : 約7nm

シリカゲルの比表面積 : 450m<sup>2</sup>/g

シリカゲルの細孔容量 : 0.8ml/g

シリカゲル層の厚さ : 0.7~0.9mm

固着剤 : 高分子ポリマー

蛍光体 : 単色蛍光物質

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
195-12871	Silicagel 70PF <sub>254</sub> Plate Wako	薄層クロマトグラフ用	20cm×20cm (10枚入り)	15,000

## 関連商品

コードNo.	品名	規格	サイズ	容量	希望納入価格(円)
190-08391	Silicagel 70FM Plate Wako	薄層クロマトグラフ用	5cm×10cm	10枚	2,600
194-08394			5cm×20cm	100枚	21,000
196-08393			20cm×20cm	25枚	13,600
193-08401	Silicagel 70F <sub>254</sub> Plate Wako	薄層クロマトグラフ用	5cm×10cm	10枚	2,600
193-08406			5cm×20cm	200枚	23,100
197-08404			5cm×20cm	100枚	18,900
199-08403			20cm×20cm	25枚	13,100
193-08381	Silicagel 70 Plate Wako	薄層クロマトグラフ用	5cm×10cm	10枚	2,600
197-08384			5cm×20cm	100枚	18,900
199-08383			20cm×20cm	25枚	12,600



## 糖尿病研究用試薬



### ラットGLP-1 ELISAキットワコー

GLP-1は、腸管L細胞から分泌される消化管ホルモンで、糖刺激によるインスリン分泌の増強やグルカゴン分泌抑制などの作用を示します。新しい糖尿病治療薬としてGLP-1が2型糖尿病の治療に有用であるとの報告が出されています。本キットはラット血漿中のGLP-1を特異的に測定することができます。

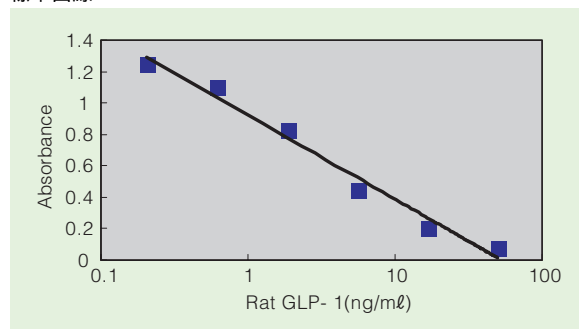
#### キット内容

- 1) 抗体固定化マイクロプレート (抗ウサギIgG, ヤギ) ...1枚
- 2) ラットGLP-1標準品 .....25ng
- 3) ビオチン化ラットGLP-1 .....6ml用
- 4) 抗ラットGLP-1, ウサギ .....6ml
- 5) ストレプトアビジン-HRP .....200 μl
- 6) ストレプトアビジン-HRP希釈液 .....12ml
- 7) 発色剤 (OPD錠) .....2錠
- 8) 発色剤溶解液 .....26ml
- 9) 洗浄原液 (20×) .....50ml
- 10) 緩衝液 .....10ml
- 11) 反応停止液 (1mol/l硫酸) .....12ml
- 12) プレートシール .....3枚

#### 性能

- (1) 感度 標準曲線範囲 : 206 ~ 50,000pg/ml

標準曲線



- (2) 再現性

同時再現性 C.V.(%) = 5.4 ~ 6.6

日差再現性 C.V.(%) = 5.5 ~ 18.9

- (3) 交差反応性

ラットおよびヒトGLP-1を特異的に測定できます。ラットGLP-2、ヒトGLP-2、ヒトグリセニン、ヒトグルカゴンとは反応しません。

- (4) 添加回収 (血漿) 89 ~ 110%

- (5) 検体量 30 μl

- (6) 操作時間 約18時間

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-59201	Rat GLP-1 ELISA Kit Wako	糖尿病研究用	96回用	75,000

## RNaseの混入からRNAをプロテクト

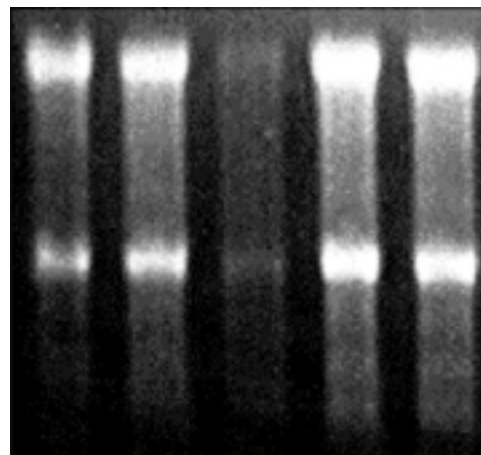


### RNase バスター

本品はTris Bufferなどの従来DEPC処理できない溶液に対して簡単にRNaseを不活化することができます。一度、本品を加えた溶液は操作中に再びRNaseが混入した場合は加温処理することにより繰り返し不活化できます。また酵素反応を阻害しません。



#### RNase活性阻害効果



Control RNA + DEPC

RNA+RNase Bacter RNase (2ng/ml)

RNA+RNase Bacter no RNase

RNA+RNase Bacter RNase (1ng/ml)

RNA+RNase (1ng/ml)

マウス脳全RNAをRNase Bacter溶解後またはDEPC処理水にて溶解しRNase Mix (RNase A, RNase T1) を2ng/mlの濃度になるよう加えた。

サンプルは60℃、20分間加温後、37℃で17時間インキュベーションした。RNAはEtBr染色にて1%アガロースゲルで検出した。

#### 使用法

1. RNase Bacterを緩衝液または溶液に終濃度が1%になるように薄め攪拌します。
2. 60℃で2時間インキュベートします。室温に戻すことにより緩衝液、溶液はRNase freeの状態になります。
3. RNaseが操作中に再び混入したと思われる場合は60℃にて10~20分、再び加温します。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
547-02281	RNase Bacter	遺伝子研究用	10ml	20,000

## マウス操作で ミクロナオーダーの生細胞を非接触操作!

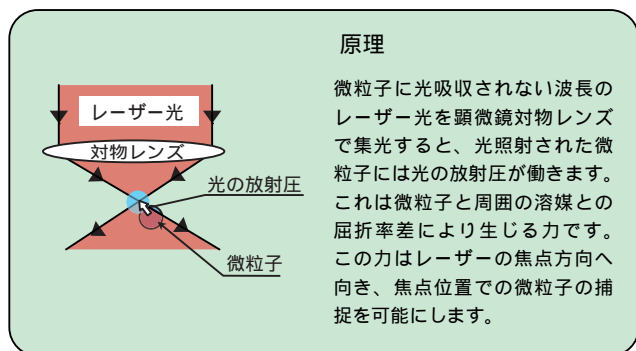


### レーザートラップ生細胞分離システム

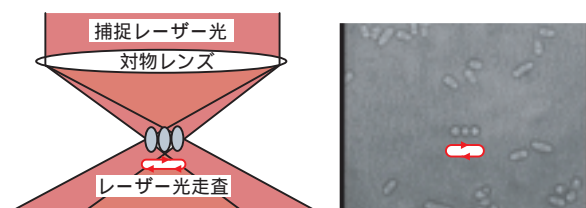
レーザートラップ三次元生細胞分離システムは、大阪大学大学院工学研究科教授増原宏の指導のもと、科学技術振興事業団の委託開発事業を通じてサイボックス株式会社が開発したシステムです。このシステムは集光レーザービームの特長を生かして、これまでにない生細胞操作を実現します。

#### 特長その1 レーザーマニピュレーション

レーザーマニピュレーションは、生細胞に光吸収されない近赤外レーザー光を用いることにより、生細胞に影響なく、非接触で操作する技術です。

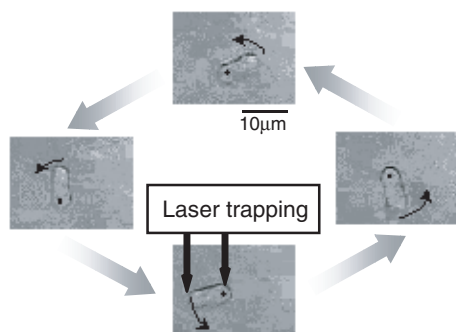


#### 〔レーザーを用いた細胞捕捉の実施例 酵母細胞の配列〕



レーザー光の集光点が3つの酵母細胞の中心を通るように走査することによって同時に酵母細胞を捕捉することができます。

#### 〔レーザーを用いた細胞捕捉の実施例 酵母細胞の回転〕

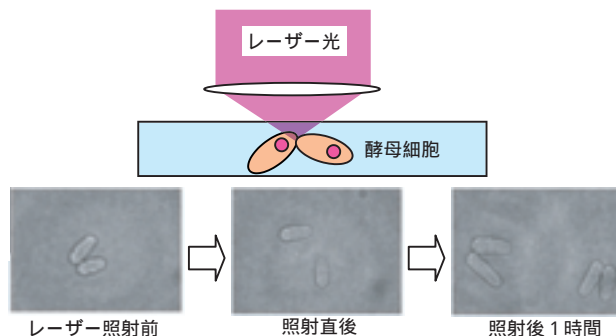


酵母細胞の一方の端をレーザー捕捉で固定し、もう一方の端のレーザー光を回転させると、酵母細胞を回転運動させることができます。

#### 特長その2 レーザーによる微細加工

生細胞へ光吸収される紫外レーザー光もしくは超短パルスレーザー光を用いることにより切断、穿孔、除去、融合が可能となる技術です。特にフェムト秒レーザー光を用いることにより、以下のような細胞の非破壊分離も可能です。

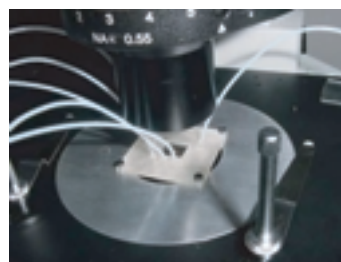
#### 〔レーザーを用いた細胞微細加工の実施例〕



レーザー光による酵母細胞の分離後、分離された酵母はそれぞれ細胞分裂することが確認された。

#### 特長その3 微量送液システム

顕微鏡下での微量の生体試料の取扱いを容易にするための微量溶液制御システムです。このシステムは、生体試料を含む微量溶液を取扱うマイクロセル、溶液の注入、抽出を行うための微量送液ポンプ、バルブから構成され、顕微鏡視野内に含まれる微量の細胞溶液の注入・抽出の制御が可能です。



顕微鏡下に設置したマイクロセル内へ生体試料を送液するシステムです。

### バイオサイバー

バイオサイバーは、これらの特長を組み込んだ一体型の装置です。レーザーマニピュレーションを行うレーザー光とレーザー微細加工を行うレーザー光を同軸で、顕微鏡に導入し、生体試料の操作・加工に利用します。これらのレーザー光の集光位置は、パソコンにより電動ガルバノミラーで制御されています。よってCCDカメラによりパソコンに取り込まれた顕微鏡映像を通じて、パソコンマウスによる、実時間での細胞操作を実現しています。また、微量送液システムに用いるマイクロセルは、生体試料の検査あるいは細胞分離など、用途に応じて流路設計し、作製します。



レーザー光学系・観察系・微量送液システムを組み込んだ装置です。

### 想定される用途

- 任意生体試料の検査や分離抽出。
- 単一生体試料の薬品添加効果の観察実験。
- 顕微受精や異種細胞融合実験。
- 微小生体試料の基板固定。

\* 価格などは別途お問合せ下さい。 \*

## ◆◆◆カタログ発行のご案内◆◆◆

### 有機試薬カタログ初版



#### 有機試薬の品揃えを充実！ 約7,000品目を追加収録

(H14.2発行 当社総合カタログ収録有機試薬と比較)

本カタログは有機合成関連の試薬および特殊化学品（化成品）を収録した有機試薬専用のカタログです。

#### カタログ構成

▶ 序文（凡例、取扱い店一覧など）

▶ 本文（A～Z順）

収載品目 有機化合物  
高純度金属  
有機金属  
合成、精製用溶媒  
合成、精製用担体

▶ 付録（特長のある商品群）

グリーンケミストリー関連試薬  
有機合成用脱水溶媒  
特注品受託サービス  
ビルディングブロック製品  
機器・器材  
化成品  
CAS No. Index

### クロマト総合カタログ 第7版



クロマト総合カタログをリニューアルしました。

本カタログは従来の第6版に比べ掲載内容が大巾に追加されております。

カタログ内容の構成は、製品リストの本文と技術資料のAppendixの2部構成になっております。また、本文は分析操作の流れに沿った掲載方法を取り、大変見やすい構成になっております。

#### 目次

- ▶ 前処理製品 固相抽出カラム  
前処理カラム
- ▶ LC製品 HPLC用製品  
カラムクロマト用製品  
周辺機器
- ▶ GC製品 キャピラリーカラム  
GC周辺パーツ
- ▶ TLC製品 分析用TLC  
分取用TLC
- ▶ 試薬 溶媒  
標準品など
- ▶ Appendix クロマトに関する技術資料

### ELISA & 抗体カタログ



ELISAキットを約350種類、抗体を約20,000種類掲載しています。

豊富な品揃えで、免疫学的研究のお役に立てるカタログです。

#### カタログ構成

▶ ELISAキット

当社で取扱っているELISAキットを製造メーカー別に特長、検量線などの情報を交えて掲載しています。

▶ 抗体を用いるキット

ウエスタンブロットリングキット、免疫染色などのキットを掲載しています。

▶ 二次抗体

和光、Jackson ImmunoResearch社、Molecular Probe社の二次抗体を掲載しています。

▶ 抗体

当社で取扱っている抗体を抗原名で、アルファベット順に掲載しています。

\* カタログをご希望の方は、ご請求下さい。 \*

# ジェームズ・ブライアント・コナント (1893.3.26 ~ 1978.2.11)

科学史家 島尾 永康

## ニューイングランド人

ジェームズ・ブライアント・コナント(図1)は、1893年3月26日、マサチューセッツ州ドーチェスター(現、ボストン内)で写真印刷業者の3番目の、ただ一人の男児として生まれた。父方の先祖は、1626年、港市セーレムを設立したロージャー・コナントであり、母方の先祖もメイフラワーの後すぐニューイングランドにきた。つまりコナントは最も早くアメリカに渡来したイギリス人の子孫である。

1904年、コナントは名門校ロクスベリ・ラテン・スクールに入学した。かれに大きな影響を与えた化学教師ブラック先生に出会った。ブラックはコナントに個人的な特別教育をし、ハーバード大学の1年生の化学実験を高校生のとき済ませてしまい、これをハーバードの化学部長セオドル・ウィリアム・リチャーズ教授に報告し、コナントはこれで大学の課程を短縮できた。ブラックは大学院での研究の助言までした。コナントが生涯、高校教育を重視したのはこのような先生との出会いを体験したからである。

1910年、ハーバード大学に入学、化学科の4年の課程を優秀な成績で3年間で卒業し、なおかつ学生の日刊新聞、『ハーバード・クリムソン』の編集者になる余裕もあった。大学院ではリチャーズ教授(1914年、アメリカ人最初のノーベル化学賞受賞者となった)の指導を受けた電気化学の研究と、新任の有機化学のコーラー教授の指導を受けたシクロプロパン化学の研究の、実質的に二重専攻のPh.D.を1916年に取得した。

## 第一次大戦で毒ガス製造に従事

1917年4月6日、アメリカはドイツに宣戦布告した。コナントはMITの有機化学教授ノリスから、前線で戦うよりも化学の才能を生かして、国内で毒ガス生産に従事することを勧められた。そこでワシントンの軍事省の毒ガス研究所に所属し、



図1 .ジェームズ・ブライアント・コナント (60歳代中頃)

1917年9月、大尉としてマスタード・ガス研究を開始し、翌年、大規模生産に入った。これがアメリカのマスタード・ガス製造の始まりである。1918年5月、コナントはさらにルイサイトの合成を研究し、クリーヴランドでルイサイトの製造工場を建てたが、操業する前に休戦になった。少佐に昇進していた。

「新しい、より有効な毒ガスの開発が爆発物や大砲より反倫理的とは思わなかった。」とコナントは述べている。かれは全国の科学者、ビジネスマン、軍人、政治家と接触し、戦時中の秘密の科学行政の方法と戦略を身につけた。この体験はその後のかれの化学者、ハーバードの総長、第二次大戦中の原爆行政家としての活躍に生かされることになる。第一次大戦は化学の戦争だった。この大戦で多くのアメリカの化学者と同様、コナントも権力の味を覚えた。

## 三つの野心

1921年4月17日、コナントはリチャーズ教授の一人娘、グレースと結婚した(図2)。コナント、28歳、グレース、23歳。婚約後まもなく、グレースに次のよ



図2 .グレース・リチャーズ のちにコナント夫人

うに語っている。「私には三つの野心がある。まずアメリカの指導的な化学者となること、ついでハーバード大学の総長となること、そしてその後、連邦政府の長官、おそらく内務長官になることだ。私は一生化学をやるつもりはない。行政家になっても一つの業務に拘束されたくない。私はじっとしておれない人間なのだ。」放言にも似たこの野心はすべて実現された。コナントの人生をこれ以上の確に言い表した言葉はない。

1919年、コナントは有機化学の助教授としてハーバードに戻った(図3)。当時のアメリカの有機化学はヨーロッパに



図3 ハーバード大学助教授コナント(28歳)

及ばなかったが、コナントは有機化学、天然物、基礎理論でそれに迫る成果をあげた。自身の評価ではクロロフィルの構造決定が最高だと見ていたが、物理有機化学のほうがその後の発展に大きく貢献した。非水溶媒中の強酸の溶液に対して超強酸の概念を導入した。一方、シクロペンタジエンのようなきわめて弱い酸の定量的扱いをも始めた。これらは非水溶液の理論への貢献の萌芽となった。キノンの可逆的な酸化還元電位や、非可逆的な電気化学的な酸化還元についてのかれの研究は当時の最先端の研究だった。ブリッジマン教授とともに有機化学の反応速度への超高圧の影響を研究し、それが重合を加速することを発見した。

生化学の領域では、甲殻類動物の血液の酸素を運ぶ顔料であるヘモシアニン中に銅を発見した。またクロロフィルの自動酸化を発見した。当時手に入った唯一の放射性同位元素である、短命の<sup>14</sup>Cを使って肝臓の代謝経路を調べたのは、放射性同位元素使用の先駆的研究だった。

1916年から1933年にかけて、『有機化合物の化学』(1933)その他10篇の化学教科書を出した。13年間に60人以上の男女の研究者と共著論文を発表した。パートレットやフィーザーなど有名になった門下生も多い。論文は117報。化学者として創造性を発揮する頂点に達したころ、1933年にハーバードの総長に選出された。

1925年、コナントはドイツに9ヶ月滞在した。ライプツヒヒ、ゲッティンゲン、フランクフルト、ヴュルツブルク、チュービンゲン、そして最高のベルリン大学など、ドイツの有名大学を歴訪するのが永年の夢だった。コナントはドイツ科学、とくに有機化学が大きな成果を上げたのはなぜかと自ら問い、それは凡庸な研究者は生き残れなくなるような、大学間、個人間の激しい競争によると見た。ドイツを見てアメリカに帰ると、ハーバード大学は二流の、地方大学に見えた。ドイツ旅行の頂点はハーバーとの面会だった。大戦中の毒ガス製造や酸化還元電位の研究で両者に共通点があった。57歳のドイツ

科学の巨人は32歳のハーバード大学準教授に丁重に接してくれた。

ワイマール時代のドイツでコナントはいたるところで、反ユダヤ、反デモクラシーの見解に接した。話をした相手の誰もが、反仏、反英、反米だった。この旅行では化学よりも敗戦国ドイツの政治経済問題について学んだことのほうが多かった。それが1930年代にドイツ問題に対処するのに役立った。

## ハーバード大学総長

1933年5月17日、化学界以外には無名のコナントが一躍、ハーバードの第23代総長に選ばれた。ハーバードでは総長の選出は選挙によるのではなく、数世紀にわたってハーバード大学を運営してきたハーバード法人を構成する、ボストンの名門数家族出身の6人が約半年かけて選ぶのである。後任と考えられた40人の候補者のリストにコナントの名前はなかった。コナントが選ばれたのは、かれと面談した法人の1人が、コナントがハーバードの重要な教育問題と運営問題を明確に把握し、将来を見通した改革案をもっているのに感銘を受け、次々に面談者がきたからである。73歳になっていた前任者に比べると、40歳の新総長は新鮮な空気を吹き込んだ。コナントが統括した20年間にハーバードは、ニューイングランドの大学から全国的な大学へ、さらに世界的な大学へと変貌した。

コナントは古い工学部を、工学及び応用物理学部門に変え、大学院を重視し、若い研究者の任期を8年に限り、永続的な在任資格を得るためには特別委員会の業績審査を受ける制度を導入した。66歳定年制にした。学生はニューイングランドに偏らず、全国から取ることにした。貧しい学生のための奨学金も設立した。コナントが総長になった年、ドイツではヒトラーが政権を取った。ドイツにおけるナチスの大学迫害にコナントは強い関心もち、1935年、ナチス・ドイツから亡命してきたトーマス・マンとアイン

シュタインに名誉学位を与えたのは、ナチスへの敵対心を示したものである。

## 原爆の開発を主導・標的の設定にもかかわる

1939年秋、ヨーロッパに戦争が勃発すると、コナントはアメリカが巻き込まれるのは必至であるから、軍備をしなければならぬと、孤立主義者を激しく攻撃した。1940年の春、民間人の科学者や技術者を動員して軍事研究をさせるため、カーネギー研究所所長のヴァネヴァー・ブッシュとともに国防研究委員会(NDRC)を組織した。ブッシュが委員長、コナントはその化学部門の委員長になった。1941年2月、使節団を率いてイギリスに行き、そこで産業には革命を起こし、強力な兵器にもなる原子力について聞かされた。コナントは産業利用には冷淡で、軍事利用に強い関心を抱いた。6月、大統領の行政部に国防研究委員会を包括する団体として、科学研究開発局(OSRD)が新設され、ブッシュがその局長、コナントがその代行および国防研究委員会の委員長に任命された。

原爆プログラムのブッシュ・コナント体制はこうして始まった(図4)。ブッシュはコナントより3歳年長、MIT出身の応用数学者・電気技師であり、いずれも学術と科学の政治活動に長けていた。ブッシュはときには激昂するが、コナントは「つねに冷静で寡黙なニューイングランド人」と自称していた。12月、コナントはウランの核分裂の軍事的価値を強調し、これと全力的に取り組むと発表した。コナントが恐れたのはドイツ人が先に原爆にすることだった。かれは、「原爆を先に開発しない限りドイツ人はこの戦争に勝てない。われわれが勝ちナチス政権が崩壊したとき、合衆国は世界の政治経済的指導者となる。」と戦後を予見した。

1942年9月、陸軍が材料の獲得と工業面を引き受ける事になり、マンハッタン計画が組織され、ルーズベルトによって、ブッシュが委員長、コナントが副委員長、



図4 . 1948年、原爆開発に対して、トルーマン大統領から表彰されるブッシュとコナント（右端）

グローヴズ少将が陸軍の責任者に任命された。核分裂するウランを作る遠心分離法、ガス拡散法、電磁気的分離法と、核分裂するプルトニウムの製法の、4つのどれが最も効率がよいか分からなかった。さまざまな規模の試験工場を試みる、通常のやり方をする時間的余裕はなかった。4つの方法を同時に、実験室規模から、試験工場の段階を飛び越えて、一挙に大規模な工場を建設して生産するという決断を下したのはコナントである。コナントは大きな賭けに出た。「コナントにはニューイングランドの開拓者たちがもっていた賭けの精神がある」と後にグローヴズは語っている。コナントはマンハッタン計画の複雑な諸部分の進行状態を監視し、それまで扱ったことのない“巨大なエゴ”同士のぶつかり合いを解決するのがかれの役割となった。

後年のコナントの計算では、1941年以後の戦時中、政府の仕事の四分之三、かれの全時間の半分以上を原爆関係の仕事に当てた。週のうち5日はワシントンに泊まり、国中の研究所や大学を視察して回った。総長職を空しくして原爆の開発に奔走するコナントの姿に、ハーバードとアメリカの権力機構の特質が顕わである。

コナントは目標の設定までかかわらずにはおかなかった。トルーマン大統領が任命した原爆投下に関する極秘の暫定委員会でコナントは、「最も好ましい標的は、多数の労働者がいる重要な軍事工場で、その周りにはかれらの家々があるところ、」と提案した。この提案に陸軍長官スティムソンが賛成した。広島は正にそれに該当した。シカゴの科学者たちは原爆は砂漠が孤島で国連の代表者たちの前でデモンストレートすべきであるとしたが、暫定委員会の全員は予告なしに人口の密な日本の都市に投下するという結論を支持した。8月末のギャラップ世論調査では、85%のアメリカ人が原爆投下を認め、コナントを称賛した。しかし少数の批判者もあった。1946年、広島破壊について大衆の批判が起こったとき、コナントは、国民が尊敬していた前陸軍長官スティムソンに、原爆使用のトルーマン決定を正当化する論文を雑誌に発表させて、大衆の議論を決定的に逸らせた。

## 原子力・科学の政治家

戦争が終結するとコナントは総長職に専念するためにハーバードに戻った。戦時中ハーバードはMITとカリフォルニア工科大学について三番目に多くの軍事研究をしていたが、平時になった以上、できるだけ早く軍事研究、すなわち秘密研究を止めるよう指示し、ハーバードでの研究はすべて発表可能なものに限るとした。

政府関係の業務も多忙だった。コナントは国務長官バーンズと共にモスクワに行き、原子力の国際管理協定を結ぼうとしたが、トルーマンが支持せず実現しなかった。アメリカ原子力委員会（AEC）の創設にあたってコナントは、国家の原子力プログラムの主目的は軍事にあるとするメイとジョンソンの2人の議員の法案を熱心に推進した。しかしこの法案は軍国主義的であるとする科学者グループに強く反対され、原子力を文民の管理下におくマクマホン法案が1946年に議会通过し、原子力委員会が成立した。コナントはその初代委員長にというトルーマンの誘いを断って、オッペンハイマーを委員長とする科学諮問委員会の創立メンバーになった。冷戦時代になると原子力委員会はテラーを代表とする水爆開発推進グループから次第に強い圧力を受けるようになった。オッペンハイマーらの科学諮問委員会はこれに反対した。しかし大統領が水爆を認めたので（1950年）オッペンハイマーは政治的に失脚し、コナントも原子力委員会から離れた。

1950年、コナントの熱心な働きかけの結果、議会は基礎研究を促進するために全米科学財団（NSF）を設立させ、大統領はコナントをその政策決定団体である全米科学局の局長に任命した。

同年、コナントはアメリカ科学アカデミー（NAS）の会長になるよう要請され、受諾した。これは無競争で選出される榮譽的地位だった。ところが一部の原子科学者たちは、かれの日本への原爆投下を非難し、また原子力委員会設立の際



図5. ワシントンのサミット会議で、(左から)アイゼンハワー大統領、西独駐在高等弁務官コナント、国務長官ダレス、アデナウアー西独大統領(1954年10月)

にも軍事重視の立場を取ったとして反対した。他方、戦時中のマンハッタン計画でのコナントの高圧的な指導振りに反感をもっていた人々があり、かれらが連合して別の対立候補者を擁立したので、コナントは憤慨して要請を断った。

### 駐西ドイツ大使

60歳になったときハーバードの総長を引退し、西ドイツのアメリカの占領地区への高等弁務官に任命され(1953)、西ドイツが独立すると駐西ドイツ大使となった(1955)。かれの第三の野心は、全く未経験の大使という顕職で実現した。学問的には永年の尊敬の対象であり、また恐るべき敵国でもあったドイツを民主国家に再建するのは大いに魅力的な任務ではあった(図5)。しかし老練なアデナウアー首相との関係はしっくりいかず、一方、アメリカ側の政策決定に大使は何の役割ももてないことが判り、外交官にいくらか幻滅を感じて任期を終えた。

### アメリカ公立高校の研究

1957年2月、ドイツから帰ると、カーネギー財団の基金35万ドルによる公立高等学校の調査を始めた(～1963)。全米各地の多様きわまりないアメリカの高校を訪問し、理想的な“総合的高等学校”を発見しようとした。その成果が『今日のアメリカの高校』(1959)であり、定価はわずか1ドル、22万部を出し、教育問題に関する最初のベストセラーとなった。ついで、『スラムと郊外』(1961)では公的生涯で初めて人種問題を論じた。



図6. ニューヨークのアパートで自伝執筆中のコナント(70歳代中頃)

フィラデルフィア、シカゴなどの大都市とその郊外を調査し、「人口稠密なスラムで黒人青少年の落ちこぼれと職にあぶれた者が増えており、社会的ダイナミズムを大都市に蓄積させている」と警告した。対策としては、学校内の人種差別撤廃は実際的でないとし、完備した黒人専用の学校を造り、連邦政府の基金で雇用の機会を促進すべきであるとした。これは徹底した差別主義者と同意見であり、多くの黒人の教育指導者から激しく攻撃され、リベラルな白人からはコナントは好ましからぬ人物と見られた。

### 晩年

1965年から1969年にかけて、自伝、『いくつかわが人生』を執筆した(図6)。1960年代後半のベトナム戦争の敗北はコナントを深く困惑させ、第二次大戦以来の自身の世界観を問い直さざるをえなくなった。晩年、孫との会話で長崎の破壊は誤りだったと認めたが、広島への原爆投下について遺憾の意を表したことはない。水爆への反対と、原発への懐疑は生涯変わらず、石炭と太陽エネルギーへの転換を政府に助言した。1978年2月11日、ニューハンプシャー州、ハノーヴァーで死去した。85歳だった。原爆行政家、原子力と科学の政府顧問。マッカーシズムに対するアカデミックな自由の擁護者。冷戦時代の政府要人。かれはまさにその時代を表し、アメリカの東部の権力機構を体現していた。

### 〔主要参考文献〕

J.G.Hershberg, *James B.Conant, Harvard to Hiroshima and the Making of the Nuclear Age*, Stanford University Press, 1993. ; J.B.Cohen, "James Bryant Conant," *Massachusetts Historical Society Proceedings*, 90(1978); P.D.Bartlett, "James Bryant Conant," *Biographical Memoirs*, 34, National Academy, (1983); スマイス著、杉本朝雄他訳、『原子爆弾の完成』、岩波書店、1951。

# シャープで再現性の良い、低コストプレキャストゲル



## SuperSep™

本品は、タンパク質、核酸の電気泳動用ポリアクリルアミドプレキャストゲルです。ゲル中には、SDSは含まれておりませんので、SDS-PAGEとNative-PAGEの両方に使用できます。

### 特長

1. 低コスト！(1,200円/1枚)
2. 使用期限は6ヶ月！
3. 濃縮ゲルにより、バンドがシャープ！
4. 再現性が良い！
5. 8連ピペット対応！(17wellのみ)
6. タンパク質、核酸に対応
7. SDS-PAGE、Native-PAGEに対応
8. ゲルが取り出しやすい包装形態

### 仕様

プレートサイズ: 100(H) × 100(W) × 3(T) mm  
 ゲルサイズ: 85(H) × 90(W) × 1(T) mm  
 ウェル数: 12well、17well  
 ウェル容積: 35 μl (12well)、25 μl (17well)

### 泳動条件

サンプルバッファー: Laemmli法サンプルバッファー  
 泳動バッファー: トリス/グリシン/SDS  
 泳動電流: 20mA定電流/1枚  
 染色: CBB染色、銀染色、ネガティブ染色など

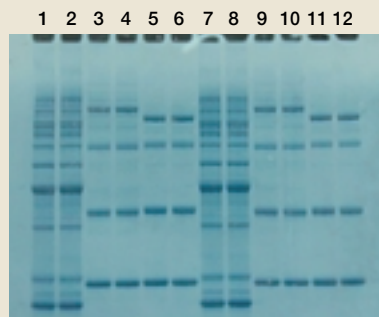


### 泳動例



CBB染色

ゲル: SuperSep™ 5-20%, 12well (コードNo. 194-12961)  
 サンプルバッファー: Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me+) (コードNo. 196-11022)  
 泳動バッファー: Running Buffer Soln. (×10) (コードNo. 184-01291)  
 染色: Quick CBB (コードNo. 299-50101)  
 サンプル: Lane 1, 2, 7, 8 ラダーマーカー  
 Lane 3, 4, 9, 10 低分子量マーカー  
 Lane 5, 6, 11, 12 高分子量マーカー



Negative染色

ゲル: SuperSep™ 10%, 12well (コードNo. 196-12921)  
 サンプルバッファー: Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me+) (コードNo. 196-11022)  
 泳動バッファー: Running Buffer Soln. (×10) (コードNo. 184-01291)  
 染色: Negative Gel Stain MS Kit (コードNo. 293-57701)  
 サンプル: Lane 1, 2, 7, 8 ラダーマーカー  
 Lane 3, 4, 9, 10 高分子量マーカー  
 Lane 5, 6, 11, 12 低分子量マーカー

### 保存条件

2 ~ 10 保存(凍結不可) 遮光保存

コードNo.	品名	濃縮ゲル %	規格	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSep™, 7.5%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™, 7.5%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™, 10%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™, 10%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™, 12.5%, 12well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™, 12.5%, 17well	5%	電気泳動用	10枚	12,000
194-12961	SuperSep™, 5-20%, 12well	-	電気泳動用	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™, 5-20%, 17well	-	電気泳動用	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™, 10-20%, 12well	-	電気泳動用	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™, 10-20%, 17well	-	電気泳動用	10枚	12,000

### 関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
196-11022	Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me+)	電気泳動用	25ml	3,100
193-11032	Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me-)	電気泳動用	25ml	3,100
184-01291	Running Buffer Soln. (×10)	電気泳動用	1l	5,200
299-50101	Quick CBB	電気泳動用	2l	9,000
299-13841	Silver Stain Kit Wako	電気泳動用	10枚用	9,000
291-50301	Silver Stain Kit Wako	電気泳動用	10枚用	9,000
299-58901	Silver Stain MS Kit	電気泳動用	20回用	19,000
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	電気泳動用	20回用	11,000

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用など他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などは含まれておりません。

和光純薬時報 Vol.71 No.2  
 2003年4月15日発行  
 発行責任者 金澤廣継  
 編集責任者 大西礼子  
 発行所 和光純薬工業株式会社  
 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
 TEL.06-6203-3741 (代表)  
 URL <http://www.wako-chem.co.jp>  
 印刷所 デジタル総合印刷株式会社

和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。  
 E-mail [oonishi.reiko@wako-chem.co.jp](mailto:oonishi.reiko@wako-chem.co.jp)  
 製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。  
 フリーダイヤル 0120-052-099  
 フリーファックス 0120-052-806  
 E-mail [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)