
**リン酸化 シヌクレイン抗体pSyn#64による
Lewy小体型痴呆症脳の免疫染色像**

Lewy小体型痴呆症はアルツハイマー病について頻度の高い痴呆性神経変性疾患である。脳に蓄積した シヌクレインのみを検出するリン酸化特異抗体の開発により、病変の検出が飛躍的に向上した。

〔総説〕

- 「リン酸化特異的抗 -シヌクレイン抗体が拓いた
パーキンソン病と関連疾患の新たな神経病理学」
岩坪 威 2
- 「土壌サンプルからのDNA抽出」 津田順子 6

テクニカルレポート

- 「アルデヒド類捕集および誘導体化用カートリッジのブランク
値測定方法について(1)HPLC用試料容器の影響」
久保田守 8
- Talking of LAL
「第58話 リムルス試験のパリデーション」
土谷正和10
- Wako ワークショップ見聞録 柴田雅朗21

〔百年前の化学〕

- 「1905年の化学を顧みて」 芝 哲夫24

〔製品紹介〕

有機合成

- プレセップ® 脱水 12
- 固定化パラジウム触媒「Pd EnCat™」 28

環境・分析

- プレセップ®-C DNPシリーズ 9
- プレセップ® シリカゲル 11
- イオン交換セルロース 12
- JIS K 0102工場排水試験用試薬 13

細胞生物

- 抗リン酸化 -シヌクレイン抗体 5
- 病理研究用固定液 14
- 櫛/ナファームラボラトリーズ パナテストイヌアルブミン 15
- ユビキチン関連試薬 16

生化学

- ルミノール, 99% 16
- 4×サンプルバッファー 19
- プレキャストゲル「スーパーセップ™ HG」 20

遺伝子

- 土壌DNA抽出キット「アイソイル」 7
- amaxa社 マウスT細胞用、ヒトモノサイト用
遺伝子導入キット 17

機器

- ACEA社 リアルタイム細胞計測システム 18

〔お知らせ〕

- 「有機試薬カタログ 第2版」発行のご案内28

リン酸化特異的抗-シヌクレイン抗体が拓いたパーキンソン病と関連疾患の新たな神経病理学

東京大学大学院薬学系研究科臨床薬学教室 岩坪 威

神経変性疾患においては、疾患ごとに一定の組み合わせでニューロンが脱落するとともに、しばしば残存ニューロンの内外に特徴的な線維性蓄積物が形成される。その形態や構成蛋白は疾患によって異なるが、特に遺伝性を示す病型では、病因遺伝子の産物蛋白そのものが凝集・蓄積する例が相次いで報告されてきた。CAGリピート病におけるポリグルタミン鎖、家族性アルツハイマー病におけるアミロイドなどがその好例である。このことから、変異によりコンフォメーション異常をきたして蓄積した蛋白が毒性を獲得し、あるいは孤発例でも類似の変化が野生型蛋白に生じて凝集することが、神経細胞死の原因となる可能性が注目されてきた。このような変性疾患の病因解明を目標として行われてきた研究手法の一つが、封入体(脳内不溶性蓄積物質)の精製と生化学的解析、いわゆるbody chemistryである。井原らによるアルツハイマー神経原線維変化の精製と構成成分タウの同定は、このようなアプローチにより達成された本邦屈指の業績である¹⁾。

振戦、固縮、無動などの運動障害を主症状とするパーキンソン病(PD)は成人に発症する神経変性疾患としては、アルツハイマー病(AD)について頻度の高いcommon diseaseである。また視覚性幻覚、変動の激しい痴呆・精神症状を特徴とするLewy小体型痴呆症(dementia with Lewy bodies; DLB)²⁾は、病理学的にPD、ADの特徴を併せ持ち、変性性痴呆症としてはADについて頻度が高い疾患であることが注目されるようになった。これらの両疾患に共通に見られる神経細胞内封入体がLewy小体(LB)である。LBはPD患者脳の黒質、青斑核、迷走神経背側核などの脳幹神経細胞に好発する封入体として記載された。このような古典的な局在を示す脳幹型LBは、光学顕微鏡的にはHE染色で赤く染まる同心円状のcore

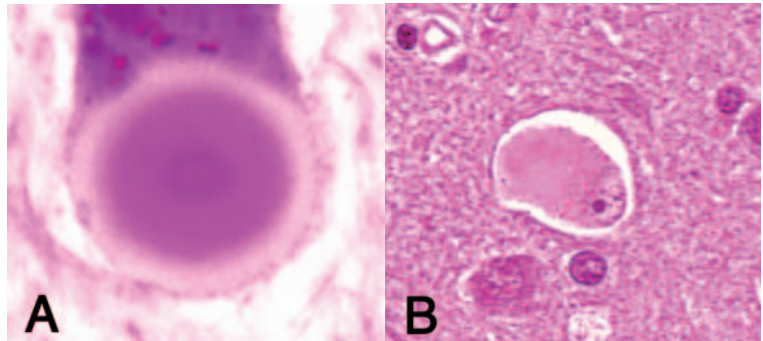


図1. 脳幹型LB (A), 皮質型LB (B)のhematoxylin-eosin (HE)染色像

(芯)とそれを取り囲む明るいhalo(量)からなる構造物として認識され、神経病理学の初心者にもその同定は困難ではない(図1A)。電子顕微鏡的には、周辺部は径10nm弱の線維構造が放射状に配列し、顆粒状物質、膜様構造を含むこともあり、中心部はこれらの構造がより密に凝集している。DLBの大脳皮質、ことに帯状回、海馬傍回、島回などの辺縁系皮質にはやや異なる形態のLBが出現し、皮質型LBと呼ばれる。皮質型LBは脳幹型LBと異なり、coreの形成が見られず、haloも不明瞭である(図1B)。習熟すればHE染色での同定も困難ではないが、その識別は脳幹型LBほど容易ではない。電子顕微鏡的にも中心部がより疎で線維構造の配列も不規則である。一方、免疫組織化学的には脳幹型と皮質型で大きな差は認められず、構成成分はきわめて類似しているものと考えられる。

LBの出現量は、神経原線維変化のそれに比べれば極めて少量である。このため生化学的精製を本格的に試みた研究者は少なく、その構成成分の同定は主に免疫組織化学に依拠してきた。LBの成分としてニューロフィラメントが最初に示唆されたが、皮質型LBでは陽性率は低く、真の構成成分か否かには疑問がもたれてきた。次いで1988年葛原らは、前年森・井原らにより神経原線維変化に同定されたユビキチンがLBを高率に染色することを見出した³⁾。この発見を契機に、

ユビキチンはLBの最も鋭敏な生化学的マーカーとして繁用されるようになったが、ユビキチンは、2004年度のノーベル化学賞に輝いたことから周知の通り、プロテアソームによる蛋白分解を導く「修飾蛋白」であり、LBの線維構造を構成する不溶化蛋白質の真の構成成分は長らく不明であった。

筆者らはLBの構成成分に興味を持ち、DLB大脳皮質を出発材料として、直径10ミクロン内外の球状を示すLBを、ユビキチン等既知の成分に対する免疫蛍光染色を施すことにより、セルソーターにより単離・精製する方法を確立した⁴⁾。LBの構成成分を調べるにあたって、得られたLBを直接蛋白化学的に解析することは、難溶性かつ多様な成分を含むLBの緻密な構造を考えると困難と予想された。そこで、神経原線維変化の先例に倣い、精製LBを抗原としてモノクローナル抗体を作製し、LBを陽性に染色する抗体が脳可溶画分中に認識する抗原を同定する"immunochemical approach"をとることにした。1クルの免疫を行うためにも百回余りのショ糖密度勾配遠心とセルソーター分離を反復する必要があり、研究は難渋を極めた。この気の遠くなるような作業を貫徹した馬場美南らは、LBを強く染色するただ1クローンのモノクローナル抗体LB509を得た。この抗体は脳可溶画分中の約15kDaの蛋白を認識したが、この研究を遂行中の1997年、Polymeropoulosらにより常染色体性優性遺伝を示す家族性

PD家系においてA53Tの1アミノ酸置換を生じる *-synuclein* 遺伝子の変異が報告されたこと⁵⁾を契機に、LB509が認識するLB中の抗原は *-synuclein* であることが確定された⁶⁾。ついで他の家族性PD家系においてA30P, E46Kなどの1アミノ酸置換や、最近になり変異のない野生型遺伝子の重複 (duplication, triplication) が同定された⁷⁾。さらに *-synuclein* 蛋白は *in vitro* で凝集し線維を形成すること、この過程は家族性PD変異により加速されることなどが示されるに及び⁸⁾、この蛋白が孤発例のPD, DLBにおいても何らかの原因でコンフォメーション異常を生じ、神経細胞中に蓄積しつつ細胞死を導くことが神経細胞変性の本質的過程と考えられるようになった。

変性疾患脳に蓄積する病因蛋白は、特殊な翻訳後修飾を受けている場合があり、これらの修飾は蓄積の原因ないし特異的なマーカーとなる可能性がある。LBの主要成分が *-synuclein* と判明した段階で、我々のラボで *-synuclein* 研究の指揮をとることになった長谷川成人は精製の基本的方針を変更し、蓄積 *-synuclein* を純粋に生化学的な方法を用いて解析することにした。正常な *-synuclein* はトリス緩衝液可溶画分に回収されたのに対し、DLB脳に蓄積した不溶性 *-synuclein* は8M尿素可溶画分に回収された。しかし不溶性 *-synuclein* の見かけ上の電気泳動度は正常 *-synuclein* と変わらず、ウェスタンプロットのパターンを見る限りでは翻訳後修飾の有無は明

らかでなかった(図2A)。この解析を担当した藤原英雄は、DLB脳から精製した不溶性 *-synuclein* を臭化シアンで切断し、分取した断片を質量分析で解析したところ、*-synuclein* の最C末端13アミノ酸からなる断片が、正常より80 (=リン酸1個の質量数に相当する)だけ多い質量数を示すことを見出した(図2B)。タンデムマスとリン酸化部位特異抗体を用いた解析を併用することにより、この修飾は129番目のセリン残基のリン酸化であることが判明した⁹⁾。正常ラット脳においても *-synuclein* はリン酸化を受けているが、その程度は数%前後に過ぎない。一方PD, DLBをはじめとする *synucleinopathy* の脳に蓄積した *-synuclein* は、死後の状態においても90%以上がリン酸化されており、凝集に際して何らかの原因によりSer129に特異的かつ高度のリン酸化が生じることに起因するものと考えられる。この部位をリン酸化するキナーゼの候補としては、*in vitro* の検討からカゼインキナーゼ1,2やG蛋白結合型受容体キナーゼ (GRK) などが見出されている。変性疾患に見られる蓄積蛋白の中で過剰リン酸化が最もよく知られ、注目されてきたのは、アルツハイマー病 (AD) やタウオパチーにおけるタウ蛋白であるが、GSK3をはじめとするタウリン酸化酵素とは異なるサブセットのキナーゼが *-synuclein* のリン酸化に関わっており、両者は別個の蓄積物を形成すること (図3F参照) は興味深い。リン酸化がこれらの蓄積物の形成に果たす真の役割は未だ不明であり、PDやADの病態を単純な「過剰リン酸化症」と捉えることは単純化に過ぎることも事実である。しかしリン酸化 *-synuclein* 特異抗体は正常 *-synuclein* とは反応せず、蓄積した *-synuclein* をきわめて鋭敏に検出するため、*-synuclein* 蓄積の神経病理学に新しい展開をもたらすことになった。

ひとたび *-synuclein* がLBの構成成分であることが判明すると、様々な神

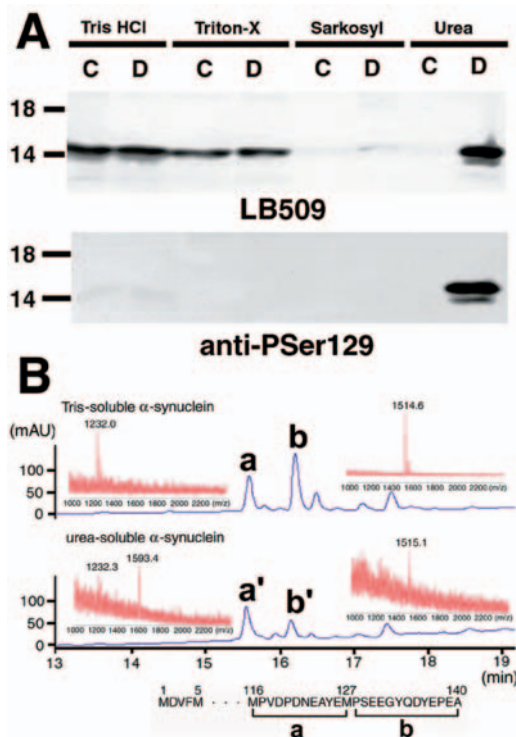


図2. リン酸化 *-synuclein* の生化学的解析

A. DLB脳 (D) 及びコントロール脳 (C) から段階的に抽出した *-synuclein* のウェスタンプロット解析。正常な *-synuclein* はトリス、トライトン-X可溶画分に分布するが、DLB脳に蓄積した不溶性 *-synuclein* は尿素可溶画分に回収される (上段、抗ヒト *-synuclein* 抗体LB509)。リン酸化Ser129特異抗体は正常 *-synuclein* とは反応せず、DLB脳蓄積 *-synuclein* のみと特異的に反応する (下段)。
B. 正常 *-synuclein* (上段) とDLB脳不溶性 *-synuclein* (下段) を臭化シアンで切断後、C末端側の2つのペプチド断片 (a, b) を逆相HPLCで分取し、MALDI TOFマスで解析した。DLB特異的にピークa'から質量数が80大きいシグナルが見られた。

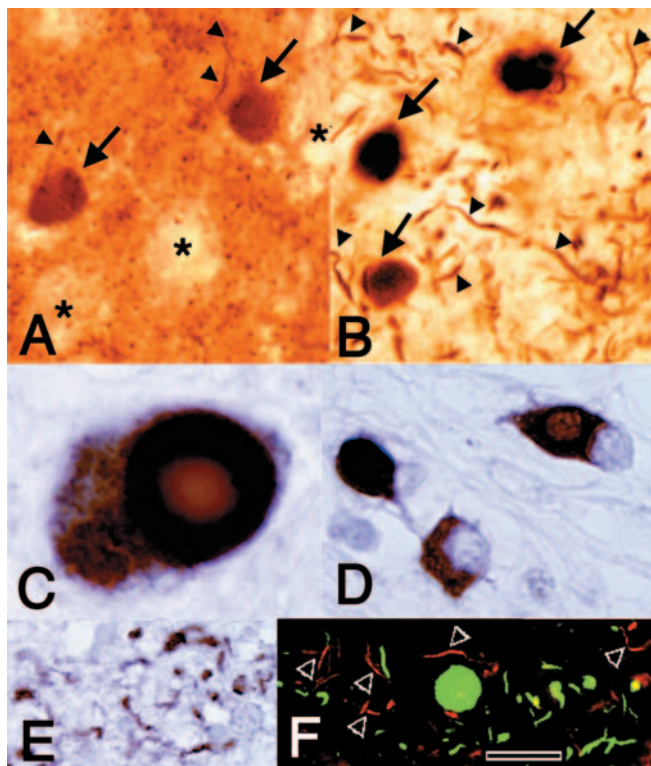


図3. リン酸化抗 α -synuclein抗体によるsynucleinopathy脳の免疫組織化学

A. リン酸化非依存性抗体LB509は、LB(矢印)、Lewy neurite(矢頭)に加えて、ニューロピルに細顆粒状に分布する正常 α -synucleinを染色する(*神経細胞体は染色されない)。B. Ser129リン酸化 α -synuclein特異抗体はLB(矢印)及びLewy neurite(矢頭)を強く染色するが、ニューロピルの正常 α -synucleinは陰性である。脳幹型LB(C)、多系統萎縮症のGCI(D)、Hallervorden-Spatz病のdystrophic neurite(E)もリン酸化 α -synuclein陽性を示す。F: DLB大脳皮質の抗Ser129リン酸化 α -synuclein抗体(緑)と抗リン酸化タウ抗体(赤)による二重蛍光染色像。リン酸化 α -synucleinがLB(中央)、Lewy neuriteなどの形態をとって大量に蓄積している(緑色で描出)。これに対し、AD脳でも見られるneuropil threads(矢頭、赤色で描出)はリン酸化タウ陽性だが、リン酸化 α -synucleinとは別個の蓄積物を形成している。スケールバー:20 μ m

経変性疾患の脳病変が α -synuclein陽性を示すことが相次いで報告され、これらは"synucleinopathy"と総称されるようになった。これらの病変は通常の α -synuclein抗体でもよく描出されるが、 α -synucleinは脳に豊富な蛋白であるため、ニューロピルの正常な α -synucleinが強く染色され、病変をマスクしてしまうことがある(図3A)。これに対し、リン酸化 α -synuclein特異抗体で染色すると、とくにDLB脳においては細胞体内のLBに加えて、ニューロピルにも多数の α -synuclein陽性変性神経突起が存在することが明らかになった(図3B)。これらはLewy neurite, Lewy thread/dotなどと呼称

され、従来のユビキチン、リン酸化非依存性 α -synuclein抗体でも海馬CA2/3領域などには存在が知られていたが、リン酸化 α -synuclein抗体を用いることによりはじめて大脳皮質における広汎な出現が確認された。LB(脳幹型LBの染色を図3Cに示す)以外に、代表的な孤発性の脊髄小脳変性症である多系統萎縮症(multiple system atrophy ; MSA)の特徴的病変であり、オリゴデンドログリアに形成されるglial cytoplasmic inclusion(GCI)(図3D)、若年期に痴呆、錐体外路症状などを示すHallervorden-Spatz病の変性神経突起(図3E)などにもリン酸化 α -synuclein陽性反応が確認され、抗

リン酸化 α -synuclein抗体がsynucleinopathy病変の最も優れたマーカーであることが確立された。このようにリン酸化特異抗体が蓄積病変の優れたマーカーとなることは、リン酸化タウ特異的抗体(たとえば長谷川らにより確立され、和光純薬から市販されているpSer422¹⁰⁾はneurofibrillary pathologyの最も鋭敏なプローブの一つである)をめぐる状況にきわめて似通っている(図3F)。

当初我々が作製した抗体は、リン酸化Ser129を中央に置く合成ペプチドを免疫原とし、リン酸化非依存性抗体成分をリコンビナント α -synuclein蛋白で吸収したflow through中に回収される画分を用いていたため、その産生量に限界があるうらみがあった。川島晶子・長谷川らは同じ抗原を用い、affinity精製抗体と同等の選択性と感度を有するマウスモノクローナル抗体P Ser129#64を確立した¹¹⁾。本抗体が病理材料におけるsynucleinopathyの免疫化学・免疫組織化学に優れていることは、齋藤・村山ら¹¹⁾によって実証されている(5頁図参照)。

リン酸化以外にも、我々は最近synucleinopathy脳に蓄積した α -synucleinがモノユビキチン化を受けている可能性を見出している¹³⁾。神経変性におけるこれらの翻訳後修飾、そして α -synuclein蓄積の意義を解明することは、PDをはじめとするsynucleinopathyの早期診断と根本治療法の創出に直結するものであり、蓄積 α -synucleinの鋭敏なマーカーであるリン酸化 α -synuclein抗体はこのようなアプローチにあたり威力を発揮するものと考えられる。

【参考文献】

- 1) Nukina, N., Ihara, Y.: "One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein", *J. Biochem.*, 99, 1541-1544(1986)
- 2) McKeith, I.G., Galasko, D., Kosaka, K., Perry, E.K., Dickson, D.W., Hansen, L.A., Salmon, D.P., Lowe, J., Mirra, S.S., Byrne, E.J., Lennox,

- G., Quinn, N.P., Edvardson, J.A., Ince, P.G., Bergeron, C., Burns, A., Miller, B.L., Lovestone, S., Collerton, D., Jansen, E.N., Ballard, C., de Vos, R.A., Wilcock, G.K., Jellinger, K.A., Perry, R.H.: "Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop", *Neurology*, 47, 1113-1124 (1996)
- 3) Kuzuhara, S., Mori, H., Izumiyama, N., Yoshimura, M., Ihara, Y.: "Lewy bodies are ubiquitinated: a light and electron microscopic immunocytochemical study", *Acta Neuropathol.*, 75, 345-353 (1988)
- 4) Iwatsubo, T., Yamaguchi, H., Fujimuro, M., Yokosawa, H., Ihara, Y., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y.: "Purification and characterization of Lewy bodies from the brains of patients with diffuse Lewy body disease", *Am. J. Pathol.*, 148, 1517-1529 (1996)
- 5) Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E.S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papapetropoulos, T., Johnson, W.G., Lazzarini, A.M., Duvoisin, R.C., Di Iorio, G., Golbe, L.I., Nussbaum, R.L.: "Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease", *Science*, 276, 2045-2047 (1997)
- 6) Baba, M., Nakajo, S., Tu, P.H., Tomita, T., Nakaya, K., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., Iwatsubo, T.: "Aggregation of α -synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies", *Am. J. Pathol.*, 152, 879-884 (1998)
- 7) Singleton, A.B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Peuralinna, T., Dutra, A., Nussbaum, R., Lincoln, S., Crawley, A., Hanson, M., Maraganore, D., Adler, C., Cookson, M.R., Muentner, M., Baptista, M., Miller, D., Blacato, J., Hardy, J., Gwinn-Hardy, K.: "Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease", *Science*, 302, 841 (2003)
- 8) Goldberg, M.S., Lansbury, P.T. Jr.: "Is there a cause-and-effect relationship between α -synuclein fibrillization and Parkinson's disease?", *Nat. Cell Biol.*, 2, E115-119 (2000)
- 9) Fujiwara, H., Hasegawa, M., Dohmae, N., Kawashima, A., Masliah, E., Goldberg, M.S., Shen, J., Takio, K., Iwatsubo, T.: " α -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions.", *Nature Cell Biol.*, 4, 160-164 (2002)
- 10) Hasegawa, M., Fujiwara, H., Nonaka, T., Wakabayashi, K., Takahashi, H., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., Mann, D.M.A., Iwatsubo, T.: "Phosphorylated α -synuclein is ubiquitinated in synucleinopathy lesions.", *J. Biol. Chem.*, 277, 49071-49076 (2002)
- 11) Saito, Y., Kawashima, A., Ruberu, N.N., Fujiwara, H., Koyama, S., Sawabe, M., Arai, T., Nagura, H., Yamanouchi, H., Hasegawa, M., Iwatsubo, T., Murayama, S.: "Accumulation of phosphorylated α -synuclein in aging human brain.", *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 62, 644-654 (2003)

Products

Wako

パーキンソン病などの研究に 抗リン酸化 α -シヌクレイン抗体

パーキンソン病、レビー小体型痴呆症 (DLB) などの神経疾患において神経細胞に特異的に出現するレビー小体は、セリン129残基で特異的にリン酸化を受けた α -シヌクレインタンパク質を含んでいます。本品は、正常な α -シヌクレインとは反応せず、蓄積したリン酸化 α -シヌクレインのみを認識するため、レビー小体関連病変の免疫組織化学、生化学検討にご利用頂けます。

クローン No. : pSyn#64

サブクラス : マウスIgG₁

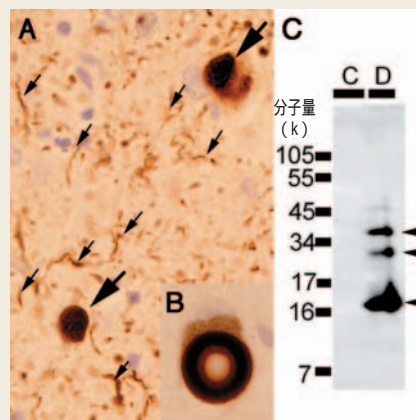
特異性 : セリン129残基が特異的にリン酸化を受けた α -シヌクレインタンパク質と特異的に反応する。正常な α -シヌクレインとは反応しない。

実用希釈倍率 : 1:1,000 ~ 1:10,000

(ウエスタンブロット、免疫組織染色)

【参考文献】

- 1) Fujiwara, H., Hasegawa, M., Dohmae, N., Kawashima, A., Masliah, E., Goldberg, M.S., Shen, J., Takio, K. and Iwatsubo, T.: *Nature Cell Biol.*, 4, 160 (2002)
- 2) Saito, Y., Kawashima, A., Ruberu, N.N., Fujiwara, H., Koyama, S., Sawabe, M., Arai, T., Nagura, H., Yamanouchi, H., Hasegawa, M., Iwatsubo, T. and Murayama, S.: *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 62, 644 (2003)



A : DLB側頭葉皮質。皮質型レビー小体 (大矢印)に加えて、無数の糸状の異常線維 (Lewy neurite; 小矢印)が染色される。B : パーキンソン病中脳黒質の脳幹型レビー小体。C : DLB大脳皮質 (D)と正常脳 (C)の尿素可溶画分のpSyn#64によるウエスタンブロット。pSyn#64はDLB脳のみでリン酸化 α -シヌクレイン (矢頭)を認識する。(データ提供 : 東京大学大学院薬学系研究科 臨床薬学教室 岩坪威 教授)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
014-20281	Anti Phosphorylated α -Synuclein, Monoclonal Antibody	免疫化学用	50 μ l	30,000

はじめに

土壌中に存在する微生物のほとんど(99.5~99.9%)は、実験室で簡単に培養することのできない難培養性の微生物であるとされています。¹⁾

したがって、単離・培養に頼った従来の方法では、これらの微生物の1%以下しか解析することができません。

このような難培養性の微生物の解析には、土壌から直接抽出したDNA(以下土壌DNA)を用いる手法が有用で、難培養性の微生物、特定微生物、組換え体等の検出、系統学的な多様性や微生物生態の解析等に利用されています。²⁾

土壌DNAの抽出と精製

土壌は、鉱物・粘土などの無機物、植物および植物遺体、腐植物質など

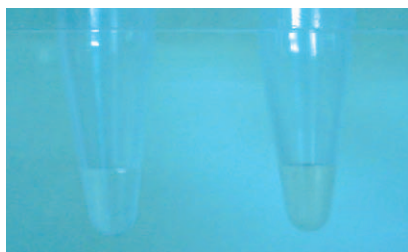


図1. 土壌DNA溶液の着色の比較

左: ISOIL for Beads Beatingで抽出したもの(透明)
 右: 他社製土壌DNA抽出キットで抽出したもの(着色が残っている)
 土壌サンプル: 褐色森林土(兵庫)

の土壌有機物、そしてそこに生息する微生物から成り立っています。

そのため、土壌から直接DNAを抽出した場合、この腐植物質も一緒に抽出されてきます。

腐植物質のコンタミネーションは、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)や制限酵素処理などの酵素反応を阻害し、トランスフォーメーション効率やDNAハイブリダイゼーションの特異性を低下させます。²⁾

したがって、土壌DNAの分子生物学的解析のためには、DNAの厳密な精製が要求されます。しかし、腐植物質を除去することは難しく、従来の方法で抽出した土壌DNAにはゲルろ過やアガロースゲルからの切り出しなど煩雑な精製操作が要求されてきました。

ニッポンジーンの土壌DNA抽出キットISOILおよびISOIL for Beads Beating(以下ISOILシリーズ)は、東京大学 頼 泰樹博士らによって開発された新しいDNA抽出法および精製法を採用しています。この方法では、特殊な条件下でのDNA沈殿により、ほとんどの腐植物質を取り除くことができます。したがって、得られた土壌DNAは、腐植物質のコンタミネーションが少なく(図1)、高純度であるため(図2)、そのままPCR等の酵素反応に使用することができます。

日本での土壌DNA抽出

現在、土壌DNAの抽出に関しては、様々な方法が報告されており、海外メー

カーからもいくつかの土壌DNA抽出キットが販売されています。

しかし、日本の土壌においては、これらの方法やキットを用いてもDNAが抽出できない場合が多々あります。これは一部の火山灰土壌からのDNA抽出が困難であるためです。³⁾

火山灰土壌に含まれる粘土鉱物アロフェンはDNAを強力に吸着するという性質があります。したがって、黒ボク土(日本の畑地面積の約半分を占める)のようなアロフェンを含む火山灰土壌から直接DNAを抽出する場合、土壌へのDNA吸着を何らかの形でブロックする必要があります。

ISOILシリーズでは特別な組成の抽出液により、この土壌へのDNA吸着を防いでいます。

したがって、非火山灰土壌はもちろん、これまで困難とされてきた火山灰土壌からもDNAを抽出することができます(図3)。

土壌微生物相を反映した土壌DNAの抽出

PCR-DGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)を用いた土壌微生物の群集構造解析や微生物生態の研究などには、実際の微生物相を反映した土壌DNAが必要です。

しかし、土壌には、ストレプトマイセスなどのグラム陽性細菌や、糸状菌(カビ)など、強固な細胞壁をもつ微生物が数多く生息しており、通常の方法で

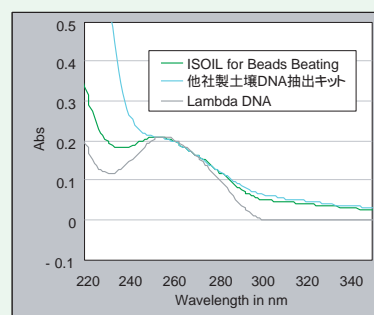
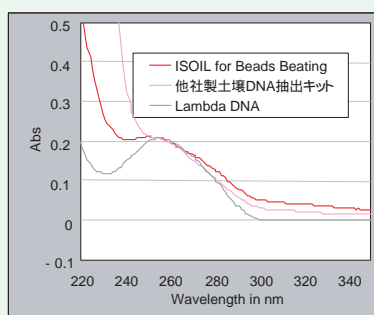
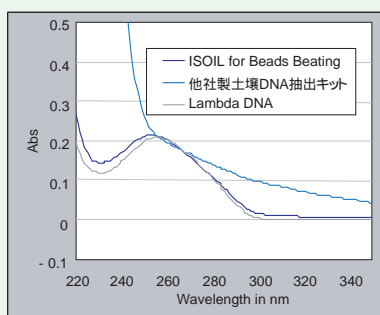


図2. 土壌DNAの吸収スペクトル

左から黒ボク土(東京)、灰色低地土(埼玉)、褐色森林土(兵庫)から抽出した土壌DNAの吸収スペクトル。ISOILで抽出した土壌DNAのスペクトルは260nmにピークのある理想的な形をしていたが、他社製土壌DNA抽出キットで抽出したものは不純物が多いため、260nmのピークが見られなかった。理想的なDNAの吸収スペクトルを見るための比較サンプルとしてLambda DNAを用いた。

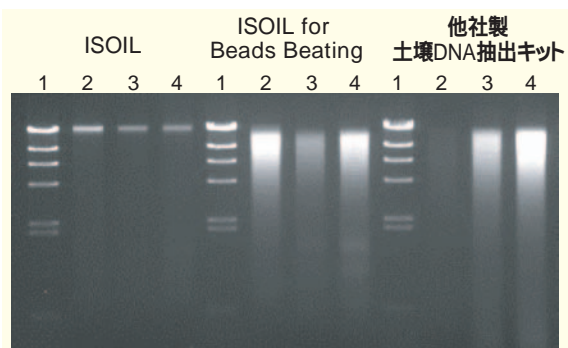


図3.様々な土壌からのDNA抽出

- 1: OneSTEP Marker1 (*Hind*)
 - 2: 黒ボク土(東京)
 - 3: 灰色低地土(埼玉)
 - 4: 褐色森林土(兵庫)
- 1% Agarose S

はこれらの微生物から効率よくDNAを抽出することはできません。

したがって、これらの微生物からDNAを抽出するためには、化学的な溶菌とビーズ破碎による物理的破碎を併用する方法(ISOIL for Beads Beatingで採用)が有効です。この方法で抽出した土壌DNAは物理的せん断を受けているため、やや低分子化(~23kb)していますが、PCR-DGGE解析のような数百bpレベルのPCRテンプレートとしては十分に使用することができます(図4)。

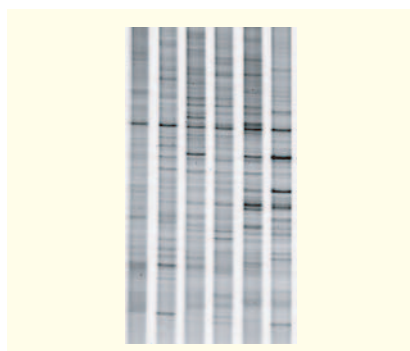


図4.土壌微生物群集構造解析

ISOIL for Beads Beatingで抽出した土壌DNAのPCR-DGGE解析
(データ提供: 東京大学大学院 農学生命科学研究科 頼 泰樹 博士)

す(図4)。

遺伝子資源としての利用

環境中の微生物全体から直接抽出したDNAをメタゲノムといいます。そして、これらは新しい遺伝子情報源としての価値が認められており、メタゲノムライブラリーとして利用されています。⁴⁾

このような、遺伝子資源としての土壌DNA利用には、高分子DNAが必要とされます。

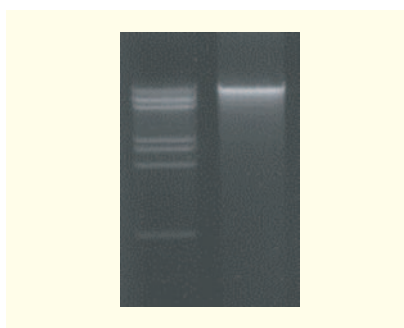


図5.土壌DNAの分子量

左から
Marker 7GT(166,50,42,33,21,18,10kb)
ISOILで抽出した土壌DNA
(平均分子量は50kb以上)
0.5% Agarose H

ISOILで採用している界面活性剤存在化での加熱抽出法では、強固な細胞壁を持つ微生物の溶菌効率は下がりますが、とても穏やかな条件下でDNAを抽出するため、平均分子量50kb以上の高分子土壌DNAを得ることができます(図5)。

おわりに

弊社で行ったISOILシリーズでの土壌DNA抽出実験では、東北から九州まで、日本中の様々な土壌からDNAを抽出することができました。また、有明海の干潟や、活性汚泥からもDNAを抽出することができました。

しかし、土壌は極めて多様なサンプルであり、土壌の種類や状態によっては、収量や純度が上がらない場合も考えられます。このような場合には土壌が特異な性質を有している可能性も考えてみる必要があります。

ISOILシリーズが日本の土壌微生物学研究の基盤技術となることを信じて、今後も開発を進めていきたいと考えています。

【参考文献】

- 1) Torsvik, V., Goksoyr, J. and Daae, F. L.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 782-787(1990)
- 2) Zhou, J.-Z., Bruns, M. A. and Tiedje, J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 316-322(1996)
- 3) Takada-Hoshino, Y. and Matsumoto, N.: *Microbes Environ.*, 19, 13-19(2004)
- 4) Rondon, M. R., August, P. R., Bettermann, A. D., Brady, S. F., Grossman, T. H., Liles, M. R., Loiacono, K. A., Lynch, B. A., MacNeil, I. A., Minor, C., Tiong, C. L., Gilman, M., Osburne, M. S., Clardy, J., Handelsman, J. and Goodman, R. M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 2541-2547(2000)

Products

土壌DNA抽出キット

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
316-06211	ISOIL	50回用	28,000
319-06201	ISOIL for Beads Beating	50回用	35,000
313-06221	Lysis Solution BB SP1	50ml	3,200

Lysis Solution BB SP1はISOIL for Beads Beating専用のオプション製品で、アロフェン含有量が非常に多い土壌試料からDNAを抽出する場合に使用します。

ISOIL, ISOIL for Beads Beating における土壌DNA抽出法は東京大学TLOが特許出願中です。ニッポンジーンは、土壌DNA抽出法に関して東京大学TLOよりライセンスを受けています。



アルデヒド類捕集および誘導体化用カートリッジのブランク値測定方法について(1) HPLC用試料容器の影響

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)、シックハウスに係るガイドライン(厚生労働省)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。

その手法の一つとして、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)含浸シリカゲルが充填されたカートリッジで大気や室内空気をサンプリング後、HPLC法により目的成分を定量する方法が採用されている。

アルデヒドの測定値は、試料を捕集したカートリッジの実測値から成分毎にブランク値を差し引いて求める。このためブランク値はその値が十分低く、かつ安定した値であることが要求される。Presep[®]-C DNPH、Presep[®]-C DNPH(Short)はこの目的に適合されるように設計、開発されたカートリッジであるが、抽出からHPLC測定に至る過程で使用する器具類および試薬からの汚染を受ける場合がある。

今回、筆者らはHPLC用試料容器がブランク値の測定結果に与える影響について検討したので報告する。

[実験概略]

1. 使用器具と試薬

(HPLC用試料容器：HPLCオートサンプラー用)

ガラス製バイアル(3種類：容量400 μ l、1.3ml、2.0ml)

セプタム(3種類：シリコン/テフロン一体型、テフロンシート、アルミシート)

セプタムサポート(シリコン製O-リング：テフロンシートまたはアルミシートと併用) ポリプロピレン製スクリュウキャップ

(その他の器具)

ガラス製シリンジ(容量30ml)

ガラス製パストゥールピペット(容量2ml)

ガラス製メスフラスコ(容量5ml)

(試薬)

Presep[®]-C DNPH

アセトニトリル(アルデヒド分析用、HPLC用)

2. 使用器具の洗浄および保管方法

メタノール洗浄 アセトニトリルに一晩以上含浸 メタノール洗浄 室内乾燥 / 保管

3. ブランク値の測定方法

実験室内にて、以下の手順でPresep[®]-C DNPHからの抽出液を各種HPLC用試料容器に分注して測定した。

- (1) シリンジにアルデヒド分析用アセトニトリルを計り取る。
- (2) Presep[®]-C DNPH 1本に接続後、抽出液を直接メスフラスコに滴下して全量を5mlとする。
- (3) (2)の抽出液を5本のHPLC用試料容器にパストゥールピペットで分注する。(試料容器は1. に記載したバイアルとセプタムを組み合わせた。)
- (4) 5本のHPLC用試料容器を順次HPLCにより測定する。

HPLC Conditions

Column: Wakosil- 5C18RS, 4.6x250mm

Eluent: CH₃CN/H₂O=60/40(v/v)

Flow rate: 1.0ml/min at 40

Detection: UV 360nm, 0.005AUFS

Injection vol.: 10 μ l

(オートサンプラーは、ニードル洗浄液としてHPLC用アセトニトリル100%を使用した。)

[結果]

1. ブランク値が上昇、変動したときの事例

- (1) 容量1.3mlのバイアルとシリコン/テフロンセプタムを組み合わせた試料容器について、新品で未洗浄および洗浄済み容器を各5本準備した。抽出液を各容器に1.0ml分注した後、HPLCで3回測定した結果、ホルムアルデヒドのブランク値は未洗浄品、洗浄品ともに変動し、上昇傾向を示した。試料容器の洗浄有無について有意差は得られなかった(図1、2)。
- (2) 容量400 μ lの洗浄済みバイアル、新品/未洗浄のテフロンシートおよびシリコン製O-リングを組み合わせたHPLC用試料容器5本に抽出液を各300 μ l分注し、HPLCで各3回測定し

た結果、ホルムアルデヒドのブランク値は試料容器No.1およびNo.3で初回を除く2、3回目の値が上昇した。測定終了後、試料容器No.1、No.3のO-リングに抽出液が付着していた(図3)。(3)(2)と同じ抽出液を容量400 μ lの洗浄済みバイアルと新品/未洗浄テフロンシートを組み合わせた容器に200 μ l分注後、ブランク値を再測定した(試料容器No.1)。No.1と同様に調製した試料容器No.2およびNo.3について、No.2にテフロンシート1枚、No.3にシリコン製O-リング1枚を浸漬させ、30分静置後にHPLC測定を各2回行った。その結果、ホルムアルデヒドのブランク値について、No.2は試料容器No.1と同程度であったが、No.3はホルムアルデヒドが2回とも高値を示し、O-リングからの汚染が判明した(図4)。

2. ブランク値のバラツキが小さかったときの事例

- (1) 容量2.0mlの洗浄済みガラス製バイアルに抽出液を1.0ml入れ、新品で洗浄済みシリコン/テフロン一体型セプタムと試料液面の空間を十分とるよう配慮した。測定全般において、ホルムアルデヒドのブランク値のバラツキが比較的小さく良好な結果を得た。しかし、試料容器No.2では、測定1回目にホルムアルデヒドが0.040 μ g/Cart.を示し、2、3回目は0.027 μ g/Cart.に低下、他の試料容器と同程度となる現象が現れた。もし注用量が変動したならばアセトアルデヒド、アセトンも同様に上昇するが、その傾向は示さず原因不明である(図5)。
- (2) 容量1.3mlの洗浄済みバイアルと新品アルミシートを組み合わせた容器5本に抽出液を各1.0ml分注後、HPLCで各3回測定した。各成分いずれもがブランク値のバラツキが小さく良好な結果を得た(図6)。

[まとめ]

実験結果から、アルデヒドやケトン類のDNPH誘導体を分析する際に使用する

る試料容器の材質がブランク値の測定結果に影響を与えることが判った。

HPLC用試料容器の場合、シリコン製セプタム、シリコン製O-リングは試料溶液と接触すると正誤差を示す場合がある。HPLC用試料容器を取り扱うときの注意点を以下の3点にまとめた。

- (1)セプタムと試料液面の空間を十分とり、接触をさける。
- (2)試料は長時間放置せず、すみやかに測定する。
- (3)試料溶液と接触する他の器具類についても汚染源になりうるかの検証が必要。

今回の事例が、アルデヒド類の測定に用いる器具の選定時の参考になれば幸いです。

次回、試料調製時に用いる器具全般の洗浄法および保管条件がブランク値に与える影響について検討した結果を報告する。

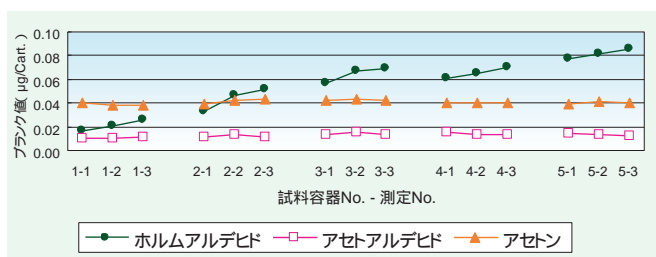


図1. 未洗浄容器(1.3mlバイアル、シリコン/テフロンセプタム)

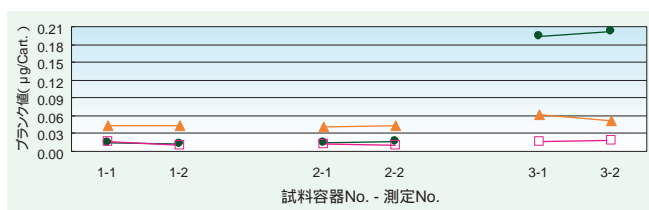


図4. テフロンシート、シリコン製O-リングの浸漬

・試料容器No.1: テフロンシート、シリコンリング浸漬なし。
 ・試料容器No.2: テフロンシート浸漬。 ・試料容器No.3: シリコンリング浸漬。

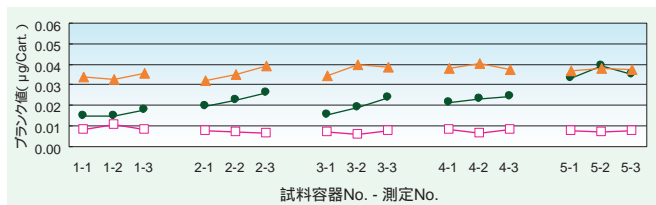


図2. 洗浄済み容器(1.3mlバイアル、シリコン/テフロンセプタム)

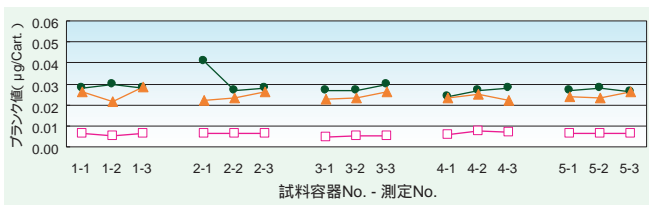


図5. 洗浄済み容器(2.0mlバイアル、シリコン/テフロンセプタム)

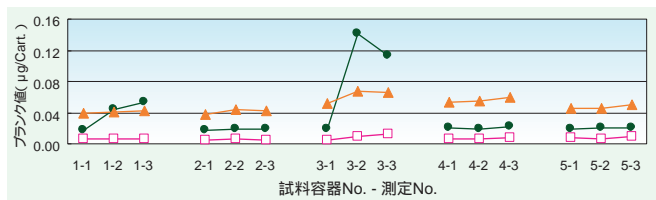


図3. 洗浄済み400µlバイアル+新品テフロンシート

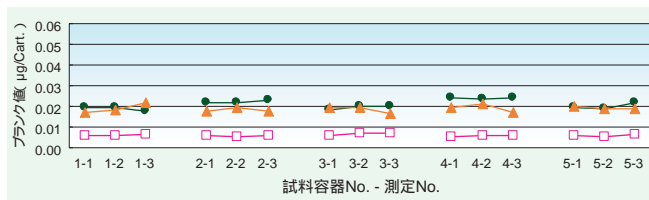


図6. 洗浄済み1.3mlバイアル+新品アルミシート

Products



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-43951	Presep [®] -C DNPH(Short)	試料前処理用	20個	24,000
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
017-17743	Acetonitrile	アルデヒド分析用	100ml	2,200
011-17741			200ml	4,000

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak [®] Wakosil DNPH-	4.6 × 150mm	デュボン	ワID	60,000
		ウォーターズ	ワIW	
Wakopak [®] Wakosil- 5C18RS	4.6 × 250mm	デュボン	トID	48,000
		ウォーターズ	トIW	

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

各種標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
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 (ホルムアルデヒドとして40µg/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

上記以外にも各種標準液を取揃えておりますのでお問合せ下さい。

第58話 リムルス試験のバリデーション

リムルス試験のバリデーションについては、これまでも何度か考えてきました。今回は、バリデーションの本音と建前について考えてみたいと思います。

リムルス試験のバリデーションでは、(1)測定手法が正しく実施されていること、(2)各試料の測定条件が正しく設定されていること、(3)日常試験で想定した条件で測定が実施されていることを証明することが行われています。各項目について確認してみましょう。

(1)測定手法が正しく実施されているか

試験を行う施設及び操作者が期待される試薬の性能を出せることを確認します。ゲル化法では、表示ラベル感度()通りのゲル化感度がでるかどうか、比濁法及び比色法では、検量線の相関係数で判断します。

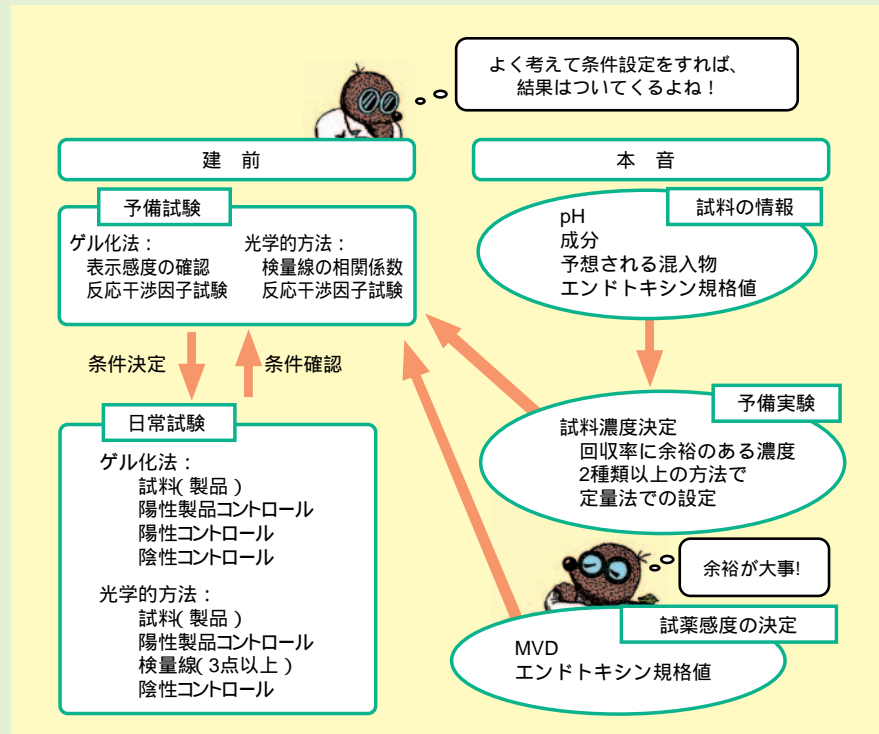
(2)各試料の測定条件が正しく設定されているか

試料が測定に影響を与えないことを確認します。基本的にエンドキシンの添加回収率で判断します。測定に影響がある場合は、通常希釈倍率を上げて影響を回避します。希釈倍率は、試料のエンドキシン規格値と使用するリムルス試薬の感度によって制限を受けます。試料の特性を考慮して、希釈以外の方法で試料の影響を回避することもあります。

(3)日常試験における測定条件の確認

日常試験では、水を陰性コントロールとして測定することで使用する水の品質を、エンドキシン溶液を陽性コントロールとして測定することで使用するエンドキシン溶液の活性を、試料にエンドキシンを添加した陽性製品コントロールを測定することで試料の測定への影響がないことを確認します。もちろん、これらの測定でリムルス試薬の劣化がないかどうか確認しているわけで

リムルス試験のバリデーション



す。これらが規格内であることを確認し、試料の測定値が信頼するにたることを証明するわけです。

上記の項目は各国局方に記載されている内容で、いわば建前に相当します。今回は本音の部分についても考えてみたいと思います。ここで言う本音とは、自信をもって試験できる条件を定めるまでに確認したり、設定したりしなければならぬ検討のことを指しています。

測定条件を決めるまでの準備として何が必要でしょうか。まず、溶解性、pH、成分など、試料に関する基礎的情報をもとに、必要な対策を予想します。特殊な操作が必要なさそうであれば、10倍程度の希釈系列を作成してエンドキシン添加回収試験を行い、おおよその希釈倍率を決めます。おおよその希釈倍率を含む2倍希釈系列を作成し、エンドキシンの添加回収試験を行い、試験に用いる希釈倍率を決定します。試料のエンドキシン規格値をもとに、

最大有効希釈倍数(MVD)を求め、決定した希釈倍率がMVDより小さいことを確かめます。

試料の測定濃度設定は、エンドキシン回収率に対する余裕と、MVDに対する余裕をもって設定する必要があります。試料の濃度は、エンドキシン回収率が規格ぎりぎりのところを選ぶのではなく、ある程度回収率に余裕がある結果が得られる濃度を選びたいところです。例えば、阻害の認められる試料の濃度を決めるとき、ゲル化法で2のエンドキシンを添加した試料が始めてゲル化する濃度を選択するのではなく、それより2倍ないし4倍高い希釈倍率を選ぶべきでしょう。ゲル化法で測定を行うにしても、他の定量法、例えばトキシノメーター法などで、よい回収率(75% - 125%程度)が得られる試料濃度を選べば、試料のロット間差や測定操作から来る誤差などによる変化に対応することができます。MVDに対する余裕は、選択するLAL

の感度に依存しますから、試料の測定濃度とMVDを考慮して、余裕のある感度の試薬(測定法)を選ぶべきでしょう。

ここで注意が必要なのは、試料のロット間差です。試料の主成分以外の混入物が測定に影響を与える場合があります。例として、アンプルなどから溶出する鉄やアルミイオンがエンドキシンの活性を低下させる場合が挙げられます。このように、通常の品質試験で管理されていない微量成分が測定に影響を与えることがあることも考慮する必要があります。通常3ロット程度の試料について

条件設定を行います。試料の性質によっては、条件設定後注意深く陽性製品コントロールの結果などを見ていく必要があるでしょう。

試薬のロット間差も微妙に結果に影響する場合があります。最近のLAL試薬はロット間差が少なくなったとはいえ、やはり天然物ですからロットごとに違った顔を見せることがあります。しかし、測定条件に余裕を持たせて設定してあれば、LALのロット間差が原因で規格から外れることはまずないと考えてよいと思います。もし、ロット間差が見られるとすると、日

常検査の陽性製品コントロールの値に違いが出てくると思われます。

エンドキシン試験を行う場合、建前である予備試験と日常試験を問題なく行うために、本音の部分である試料の情報や条件設定のための予備実験、試薬の選択などが行われます。すなわち、建前でいつも良い結果を得るために本音の部分で努力が必要と言えるのではないのでしょうか。

今回は、第59話「SLP試薬の応用(その2)」の予定です。

New Products

近日発売

フラッシュクロマトグラフ用カラム Wako Presep® Silica Gel Type M, Type L

本品は、ポリプロピレン製のシリンジ型カラムへ高品位のシリカゲルを充てんした、フラッシュクロマトグラフ用のパックドカラムです。着脱が容易な専用カラムホルダーを用意しておりますので、併せてご使用下さい。



特長

優れたコストパフォーマンス
高品質シリカゲルの採用

仕様

	Presep® Silica Gel Type M	Presep® Silica Gel Type L
粒子径	20 ~ 40 μm	
細孔径	7nm	
カラムサイズ	25ml	70ml
充てん量	11g	30g

カラム

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-44151 293-44153	Presep® Silica Gel Type M	試料前処理用	10個×2 10個×10	20,000 照会
293-44251 299-44253	Presep® Silica Gel Type L	試料前処理用	10個×2 10個×10	25,000 照会

備品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-45151	Presep® Silica Gel Type M Column Holder	試料前処理用	1個	20,000
299-44851	Presep® Silica Gel Type L Column Holder	試料前処理用	1個	26,000
297-45251	Presep® Silica Gel Type M Filter	試料前処理用	10個	2,000
295-44951	Presep® Silica Gel Type L Filter	試料前処理用	10個	2,000
293-45351	Presep® Silica Gel Type M O-ring	試料前処理用	10個	4,000
295-45051	Presep® Silica Gel Type L O-ring	試料前処理用	10個	5,000

有機合成用



プレセップ® 脱水

プレセップ® 脱水(30ml)

プレセップ® 脱水、48ウェルプレート(3ml)

プレセップ®脱水は、内筒カラムと外装の組合せによる、2重構造の前処理カラムです。内筒側面へ縦長のスリットを入れ、疎水性メンブランフィルターを取り付けており、酢酸エチルのような比重の軽い溶媒と水を分離することが可能です。

この度、ご好評いただいておりますシリンジタイプ(6ml)につづき、大容量のシリンジタイプ(30ml)及び多検体の試料へ対応が可能となる48ウェルプレートを追加しました。



プレセップ® 脱水



プレセップ® 脱水、48ウェルプレート(3ml)

特許申請中

仕様

	プレセップ® 脱水	プレセップ® 脱水、30ml	プレセップ® 脱水、48ウェルプレート(3ml)
外筒、外装	ポリプロピレン製 カラム(6ml)	ポリプロピレン製 カラム(30ml)	ポリプロピレン製 48ウェルプレート
内筒	ポリプロピレン製 カラム(5ml)	ポリプロピレン製 カラム(25ml)	ポリプロピレン製 8ウェル(各3ml)×6
フィルター	テフロン製メンブランフィルター		

使用方法

水・有機溶媒の混合液を内筒へ添加、ろ過することで水と有機溶媒の分離が可能です。

特に、水と非水溶性有機溶媒(酢酸エチル、ヘキサン、ジエチルエーテルなど)の分離に有用です。

注意事項

自然落下によるろ過を推奨します。

水溶性有機溶媒を対象とした場合、十分な分離が行えない場合があります。

通液後長時間放置しておく、フィルターと水がなじみ、水がフィルターを通過してしまうことがあります。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
299-40451	Presep® Dehydration	有機合成用	100個	40,000
293-59901	Presep® Dehydration(30ml)	有機合成用	50個	照会
299-44351	Presep® Dehydration, 48Well Plate(3ml)	有機合成用	10個	照会

イオン交換セルロース



CM-セルロース

QA-セルロース

従来から発売していますDEAE-セルロースに加え、陽イオン型のCM-セルロース、強塩基性陰イオン型のQA-セルロースを追加しました。それぞれ膨潤型微顆粒性のイオン交換セルロースですので、用途に応じてご活用下さい。

特長

タンパク質や他の高分子に対して高い交換容量をもつ。膨潤型であるので、使用前の酸・アルカリ処理が不要である。ロット間のバラツキが少なく、再現性のよいデータが得られる。

特性

	CM-セルロース	QA-セルロース	DEAE-セルロース
交換基	カルボキシメチル	4級アミン	ジエチルアミノエチル
イオン交換容量 (meq/dg*)	0.90 ~ 1.15	1.00 ~ 1.20	0.88 ~ 1.08
有効交換容量 (mg/dg*)	1,180	750	700

*dry gram

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
033-19361	CM-Cellulose	カラムクロマトグラフ用	100g	8,000
035-19365			500g	29,000
175-00561	QA-Cellulose	カラムクロマトグラフ用	100g	8,000
177-00565			500g	27,000
041-26171	DEAE-Cellulose	カラムクロマトグラフ用	100g	8,000
043-26175			500g	27,000

JIS K 0102 工場排水試験用試薬 多元素混合標準液



工場排水、家庭排水などに由来する水質汚染物質は、有機物、重金属、無機イオンと非常に多岐にわたっています。それら汚染物質を、測定する代表的な公定法として JIS K 0102 工場排水試験法があげられます。

当社では、JIS K 0102 工場排水試験法に記載されているクロム、カドミウム、鉛などの重金属類を、ICPで一斉分析する際に使用可能な各金属種の混合標準液を発売します。

近日発売

コードNo.	品名	混合元素種(mg/ℓ)	規格	容量	希望納入価格(円)
133-14691	Multielement Standard Solution W-	Al:20, Ca:20, Mg:10 in 0.1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	5,700
136-14701	Multielement Standard Solution W-	Cd:8, Co:10, Cu:10, Fe:10, Mn:10, Ni:10, Pb:10, Zn:10 in 0.1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	7,300
133-14711	Multielement Standard Solution W-	Cr:10, Mo:20, V:10 in 0.1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	5,700

関連商品

水質分析用 多元素混合標準液

コードNo.	品名	混合元素種(mg/ℓ)	規格	容量	希望納入価格(円)
139-11491	Multielement Standard Solution W-	K:2,000, Na:2,000, P:1,000 in H ₂ O	ICP分析用	50mℓ	7,300
132-11501	Multielement Standard Solution W-	Ca:1,000, Co:100, Fe:100, Mg:1,000, Mn:100, Ni:100 in 1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	7,300
139-11511	Multielement Standard Solution W-	Cd:100, Cr:100, Cu:1,000, Pb:100, Zn:1,000 in 1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	7,300
139-11871	Multielement Standard Solution W-	Cd:100, Cr:100, Cu:100, Fe:100, Mn:100, Na:100, Pb:100, Zn:100 in 0.1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	7,300
138-13781	Multielement Standard Solution W-	Al:100, B:100, Cd:100, Cr:100, Cu:100, Fe:100, Mn:100, Mo:100, Na:100, Ni:100, Pb:100, Zn:100 in 1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	12,000
139-14551	Multielement Standard Solution W-	Al:100, B:100, Ca:100, Cd:100, Cr:100, Cu:100, Fe:100, Mg:100, Mn:100, Na:100, Pb:100, Zn:100 in 0.1mol/ℓ HNO ₃	ICP分析用	50mℓ	12,000

調製液



当社では、JIS K 0102に収載されているCOD、TOC、フェノール類、シアンなどの測定に使用可能な各種調製液及び標準液も発売しております。併せてご利用下さい。

100 における過マンガン酸カリウムによる酸素消費量 (COD_{Mn})

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
195-12795	20w/v% Silver Nitrate Solution	COD測定用	500mℓ	12,000

有機体炭素(TOC)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
167-21341	Potassium Hydrogen Phthalate Standard Solution (as C:1mg/ml Water Solution)	水質試験用	50mℓ	4,000

フェノール類

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
039-19385	Copper()Sulfate Solution (CuSO ₄ ·5H ₂ O:10w/v%)	排水試験用	500mℓ	2,500
166-21291	Phenol Standard Solution (1mg/ml Water Solution)	水質試験用	1mℓx5A	5,400

シアン化合物

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-19605	Acetic Acid(1+8)	排水試験用	500mℓ	2,400
263-01795	10w/v% Zinc Acetate Solution	排水試験用	500mℓ	3,000

水銀(Hg)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-20075	5w/v% Ammonium Peroxodisulfate Solution	排水試験用	500mℓ	2,500
163-21005	5w/v% Potassium Permanganate Solution	排水試験用	500mℓ	3,800

ひ素(As)、すず(Sn)、クロム(Cr)、バナジウム(V)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
168-21175	0.3w/v% Potassium Permanganate Solution	排水試験用	500mℓ	3,000

病理研究用固定液

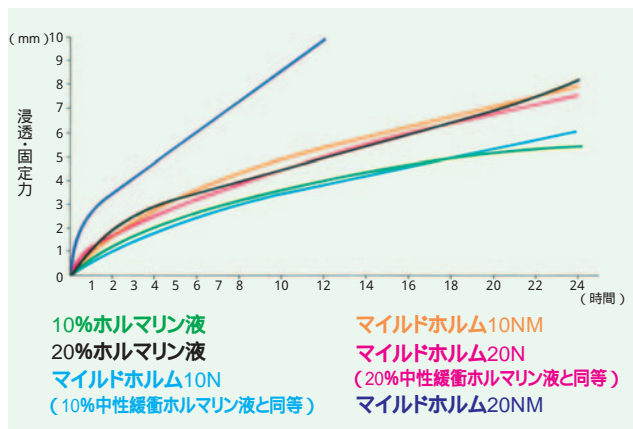


ホルマリン液

固定操作は、死体あるいは生体より採取した組織片のその生態または病態を顕微鏡標本として観察しようとする際、その組織片をできる限り「生きていた時の状態」のままで保存するために行われ、病理組織標本作製において最も重要な工程のひとつです。

この度、汎用固定液のホルマリン液に便利な小包装タイプを追加しました。

ヒト肝臓への浸透・固定度テスト



コードNo.	品名	ホルムアルデヒド含量	規格	容量	希望納入価格(円)
064-03843	10% Formalin Solution	4%	組織固定用	200ml	1,050
060-03845				500ml	1,200
068-03841				1ℓ	2,300
066-03847				20ℓ	12,000
067-03855	15% Formalin Solution	6%	組織固定用	500ml	1,200
065-03851				1ℓ	2,300
063-03857				20ℓ	12,000
068-03863	20% Formalin Solution	8%	組織固定用	200ml	1,050
064-03865				500ml	1,200
062-03861				1ℓ	2,300
060-03867				20ℓ	12,000

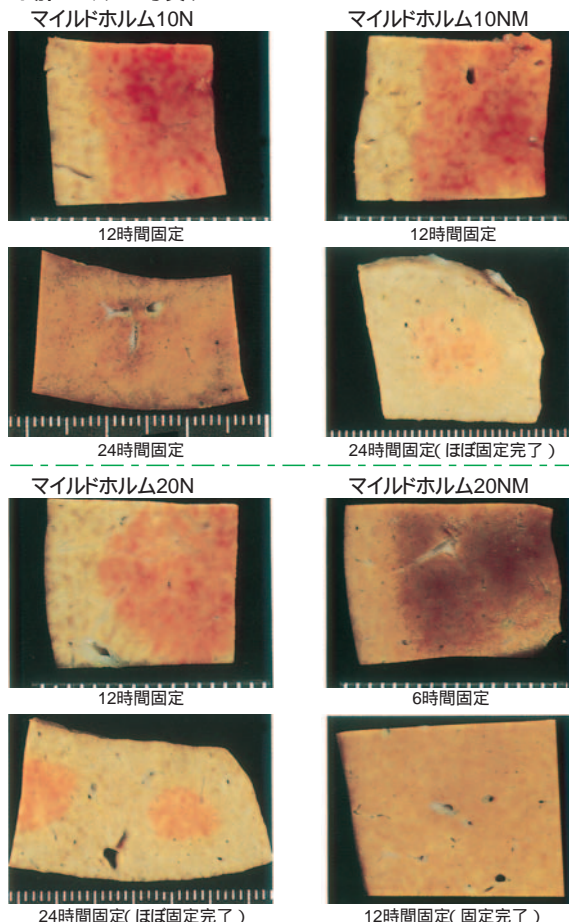
関連商品

マイルドホルム

Lillie処方に従って調製された10%及び20%中性緩衝ホルマリン液に、ホルマリンの刺激臭を抑えるマイルド剤(ワインエキス)を添加した固定液です。

10NM、20NMはメタノール添加品で、組織への浸透力・固定力により優れています。

〔ヒト肝のマクロ写真〕



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-10311	Mildform® 10N	病理研究用	1ℓ	2,300
131-10317			20ℓ	11,500
132-10521	Mildform® 10NM	病理研究用	1ℓ	2,500
130-10527			20ℓ	13,400
136-10041	Mildform® 20N	病理研究用	1ℓ	2,300
134-10047			20ℓ	11,500
139-10531	Mildform® 20NM	病理研究用	1ℓ	2,800
137-10537			20ℓ	13,400

各種固定液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-01661	10% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ	2,100
060-01667			20ℓ	10,000
069-02391	15% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ	2,100
067-02397			20ℓ	10,000
060-01721	20% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ	2,000
068-01727			20ℓ	10,000
064-00406	Formaldehyde Solution 【Formalin】	試薬特級	500ml	680
062-00407			18kg	照会
160-16061	Paraformaldehyde	組織固定用	100g	1,700
162-16065			500g	4,000
163-20145	4% Paraformaldehyde Phosphate Buffer Solution	組織固定用	500ml	2,300
034-17711	Carnoy Solution	組織固定用	1ℓ	3,600

イヌアルブミン特異的 パナテスト® イヌアルブミン

和光純薬株式会社
Panapharm Laboratories

尿中アルブミンは糸球体基底膜の損傷などによる血清タンパク質の漏出に伴い増加するといわれています。そのため尿中アルブミンは、腎糸球体の炎症、アミロイド腎糖尿病糸球体腎症などの指標になると考えられています。

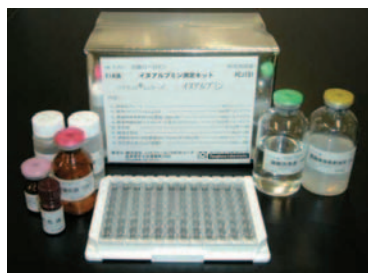
本測定キットは、イヌアルブミンに特異的な抗体を用いた酵素免疫測定法(EIA法)により、尿タンパク定性試験紙では検出不可能な微量のアルブミンを迅速かつ特異的に検出することができます。

特長

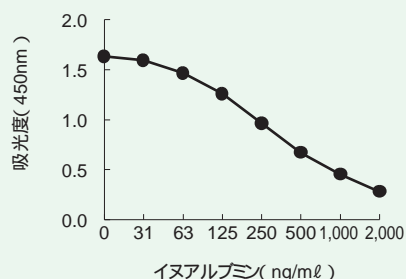
- イヌアルブミンに特異的な抗体を使用
- 測定時間はわずか3時間
- 高感度(31~2,000ng/ml)

キット内容

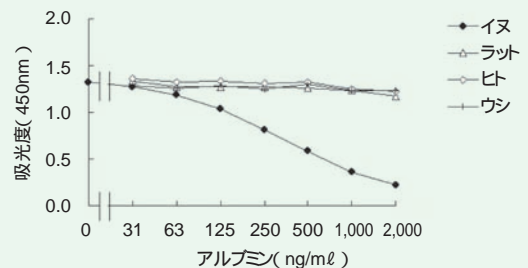
- 固相化プレート 96ウェル×1
(抗イヌアルブミン抗体固相化プレート)
- 標準イヌアルブミン(4μg/ml) 2ml用(凍結乾燥品)×1
- 濃縮検体希釈液(5倍濃縮:200ml用) 40ml×1
- 酵素標識抗原 12ml用(凍結乾燥品)×1
(ペルオキシダーゼ結合イヌアルブミン)
- 発色液 0.5ml×1
(TMBZ; 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine)
- 基質液 20ml×1
- 濃縮洗浄液 40ml×1
(10倍濃縮PBS-Tween 20:400ml用)
- 反応停止液(1mol/l硫酸) 15ml×1



標準曲線



交差反応性試験

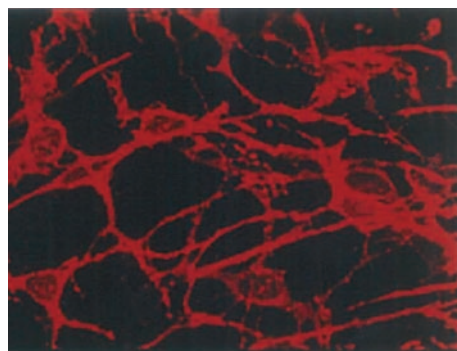


コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
304-15501	PCJ131	パナテスト® イヌアルブミン	96回用	96,000

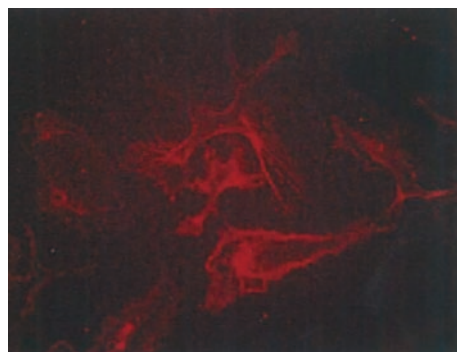
和光純薬株式会社
Panapharm Laboratories

抗c-Kit モノクローナル抗体

本抗体はc-Kitレセプター型受容体チロシンキナーゼの受容体部分に結合してリガンドとの結合を阻害し、c-Kitレセプターシグナルを遮断します。また、本抗体を生後直後のマウスに慢性投与する事により、消化管異常モデル動物の作成が可能となります。



マウス腸管におけるカハール間質細胞ネットワーク



カハール間質細胞(初代細胞)

【参考文献】

Torihashi, S. et al. *Gastroenterology*, 117, 140(1999)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
303-15571	MIO11A	Anti c-Kit monoclonal antibody	0.5mg	33,000

なお、お試し期間として平成17年1月30日まで希望納入価格 20,000円で提供させていただきます。

翻訳後修飾の研究に ユビキチン関連試薬



ユビキチン-プロテアソームシステムによるタンパク質の分解は、ユビキチン活性化酵素(E1)やユビキチン転移酵素(E2)が標的タンパク質にユビキチンを修飾し、それをシグナルとして26Sプロテアソームが標的タンパク質を補足することにより行われます(下図)。このシステムは、タンパク質の分解機構として良く知られており、アポトーシス、シグナル伝達、代謝調節などの高次機能の制御やタンパク質の品質管理などにおいて重要な役割を果たしています。

また、ユビキチンと同じく標的タンパク質を修飾して様々な機能を発揮するユビキチン様タンパク質(Ubl)としてSUMO-1やNEDD8が知られています。これらの機能はいまだ明らかではありませんが、SUMO-1については、基質の細胞内局在制御や安定性制御に影響するとの報告があります。一方、NEDD8についてはポリユビキチン活性を増加させるとの報告があります。

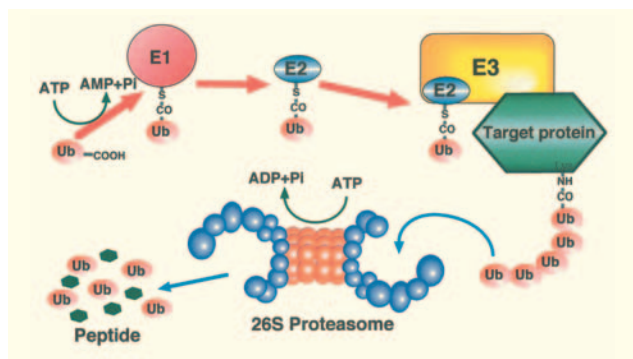


図. ユビキチン-プロテアソームシステム

当社は、ユビキチン活性化酵素(E1)を始め、ユビキチン転移酵素(E2)やプロテアソーム、及びその阻害剤などユビキチン-プロテアソーム関連試薬を安価にラインアップしています。また、ユビキチン様タンパク質としてSUMO-1、NEDD8も取揃えています。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
E1 (ユビキチン活性化酵素)				
219-01111	Ubiquitin Activating Enzyme, Mouse, recombinant, Soln.	細胞生物学用	25µg	30,000
198-13341	SUMO-1 Ubiquitin Activating Enzyme, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	25µg	30,000
E2 (ユビキチン転移酵素)				
212-01221	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc1, Histidine Tag, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	56,000
219-01231	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc2, Histidine Tag, Human, recombinant Soln.	細胞生物学用	100µg	56,000
213-01131	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc3(cdc34), Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000
215-01191	Ubiquitin Conjugating Enzyme UbcH5a, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000
218-01201	Ubiquitin Conjugating Enzyme UbcH5b, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
216-01121	Ubiquitin Conjugating Enzyme UbcH5c, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000
216-01241	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc6, Histidine Tag, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	70,000
213-01251	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc7, Histidine Tag, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	48,000
210-01261	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc8, Histidine Tag, Human, recombinant Soln.	細胞生物学用	100µg	近日発売
210-01141	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc9(SUMO-1), Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000
217-01271	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc10, Histidine Tag, Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	70,000
217-01151	Ubiquitin Conjugating Enzyme Ubc12(NEDD8), Human, recombinant Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000

UBL (ユビキチン様タンパク質)

199-12771	SUMO-1(1-97) Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	200µg	30,000
145-07621	NEDD8(1-76) Human, recombinant, Soln.	細胞生物学用	100µg	30,000

Inhibitor (阻害剤)

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]	-	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

Substrate (基質)

164-20511	20S Proteasome, Fluorogenic Substrate	生化学用	5mg	24,000
-----------	---------------------------------------	------	-----	--------

Proteasome (プロテアソーム)

161-20521	20S Proteasome, from Human Erythrocyte	生化学用	50µg	34,000
-----------	--	------	------	--------

Antibody

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]	-	50µl	42,500

高純度



ルミノール、99%

ルミノール(5-アミノ-2,3-ジヒドロ-1,4-フタラジンジオン)は、Albrechtにより発見された化学発光物質です。血液に触媒されて青白く発光し、新鮮な血液よりも日時が経過してヘミンを形成した血液の方が強い発光を示すため、血痕の識別に応用されています。本品は、HPLC含量が99.0%以上を保証した高純度ルミノールです。

規格

含量(HPLC) : 99.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
129-05081	Luminol, 99%	生化学用	1g	2,800
125-05083			5g	8,400

遺伝子導入システム

amaxa biosystems

プライマリー細胞、株化細胞に対して高い導入効率を実現し、300種類以上の細胞において導入実績のあるNucleofector®システムに新キットがラインアップされました。

マウスT細胞用キット

マウスT細胞への遺伝子導入はウイルス法でのみ細胞刺激したT細胞へ遺伝子導入が可能でした。amaxa社が開発したマウスT細胞用キットとエレクトロポレーション法を応用した専用Deviceの組合せにより非ウイルス法で初めて効率良く未刺激T細胞への遺伝子導入を実現しました。



Nucleofector® Device

特長

Balb/c、C57BL/6由来のCD4⁺、CD8⁺T-cellに導入専用培地により細胞生存率アップ
プラスミド、siRNA導入が可能
セットアップされたプログラムを実行するだけの簡単操作

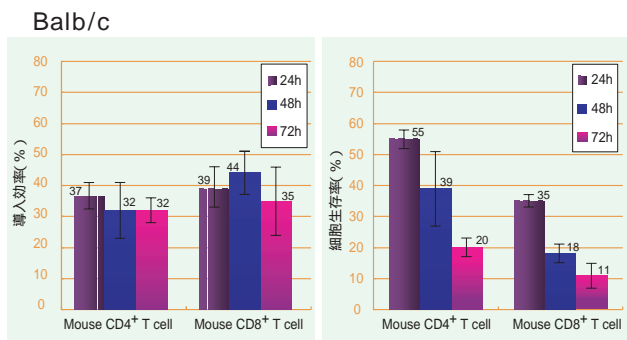
キット内容 (25回用)

Mouse T Cell Nucleofector® Solution	2.25ml
Supplement	0.5ml
Mouse T Cell Nucleofector® Medium	100ml
Medium Component A	1ml
Medium Component B	1ml
pmaxGFP	10µg(0.5µg/µl)
Cuvettes	25個
Plastic pipettes	25本

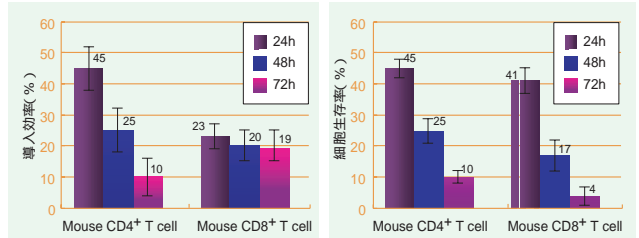
実験例

マウスT細胞への遺伝子導入効率、細胞生存率の測定

キット添付のpmaxGFP2.5µgを導入し24、48、72時間後に導入効率、細胞生存率を測定した。



C57BL/6



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
556-64451	VPA-1006	Mouse T Cell Nucleofector® Kit	25回用	75,000

ヒトモノサイト用キット

ヒトモノサイト用キットがラインアップされました。従来法でのエレクトロポレーション法、リポフェクション法では5~10%と低導入効率でしたが、amaxa社システムでは高細胞生存率を維持したまま60%まで導入効率を上げることが可能です。

特長

CD14⁺ヒトモノサイトに導入
専用培地により細胞生存率アップ
プラスミド、siRNA導入が可能
セットアップされたプログラムを実行するだけの簡単操作

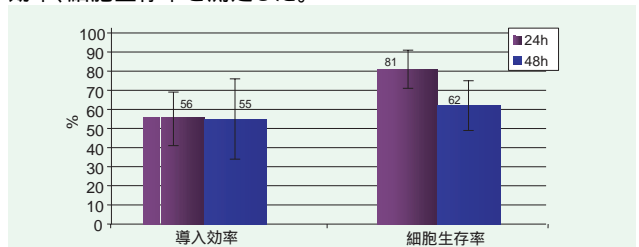
キット内容 (25回用)

Human Monocyte Nucleofector® Solution	2.25ml
Supplement	0.5ml
Human Monocyte Nucleofector® Medium	100ml
pmaxGFP	10µg(0.5µg/µl)
Cuvettes	25個
Plastic pipettes	25本

実験例

ヒトモノサイトへの遺伝子導入効率、細胞生存率の測定

キット添付のpmaxGFP1µgを導入し24、48時間後に導入効率、細胞生存率を測定した。



マウスT細胞キット/ヒト単球細胞用キットを使用される場合はNucleofector® Deviceのプログラムアップデートが必要です。お持ちの装置のプログラム状況をご確認ください。
Nucleofector® I V2.3のバージョンが必要
Nucleofector® II S3.4のバージョンが必要
お持ちの装置のバージョンが不明な場合は当社までお問合せ下さい。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
553-64461	VPA-1007	Human Monocyte Nucleofector® Kit	25回用	75,000

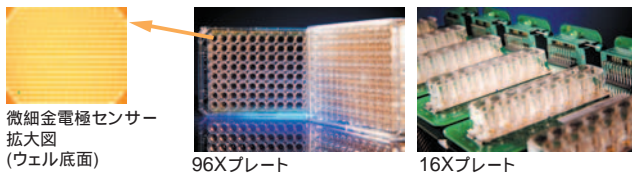
ラベルフリーで細胞数・細胞形態変化をリアルタイム自動測定



RT-CES™：リアルタイム細胞計測システム

RT-CES™システムは電子デバイスと細胞培養を組合せた画期的な細胞計測システムで、接着細胞を用いた実験系により、簡便かつ正確に、多くのセルベースアッセイ情報を得ることができます。RT-CES™システムのコア技術はマイクロプレートの底面に装着された微細金電極センサーです。このセンサーにより培養細胞の細胞数・細胞形態変化などをリアルタイムに自動測定します。また、高価な試薬での細胞ラベルは不要で、非侵襲測定のため細胞にダメージを与えません。

本システムのアプリケーションは多彩で、がん研究、細胞接着と細胞伸展の研究、レセプター/リガンド(GPCRなど)相互作用の研究、マストセルの活性化とアレルギーの研究、細胞毒素・ウイルス毒素・環境毒素研究、免疫細胞による細胞傷害活性の研究、細胞周期リアルタイム測定などに利用できます。また、100種類以上の株化細胞と初代培養細胞での実績もあり、今後、更にアプリケーションを追加していく予定です。



微細金電極センサー
拡大図
(ウェル底面)

96Xプレート

16Xプレート

特長

ラベルフリー

高価なラベルやレポーターが不要である。電子センサーによる測定のため、細胞の増殖やアッセイに影響を与えない。

リアルタイム自動測定

実験中に、データを自動取得しリアルタイムで解析する。カインティックアッセイにより細胞の数、形態、接着などの詳細な情報を得ることができる。細胞増殖の定量測定では、ウェル間のCV値が5%以下で非常に広いダイナミックレンジを有する。

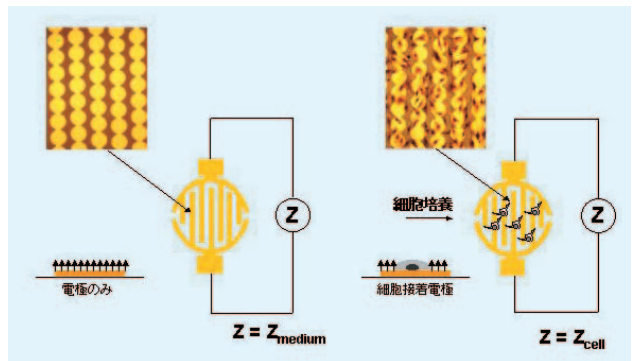
多彩なアプリケーション

細胞増殖・細胞死・細胞形態変化・細胞の接着や伸展などに伴う多彩なアプリケーションに応用できる。

96検体までの同時測定可能

測定原理と模式図

プレートのウェル底面の金電極に細胞が接着することにより、培地の場合と比較して電気抵抗値が増加するのを測定します。

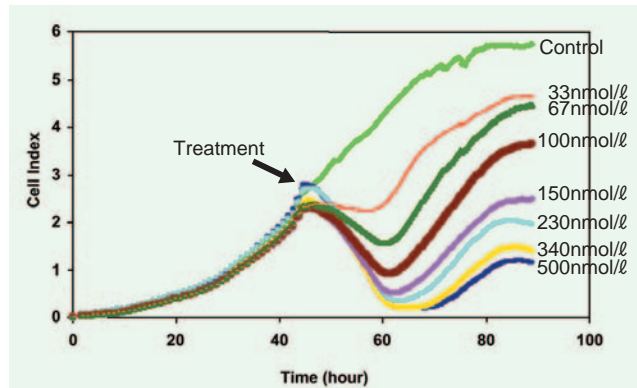


アプリケーション

- がん研究
- 細胞接着と細胞伸展の研究
- レセプター/リガンド(GPCRなど)相互作用の研究
- マストセルの活性化とアレルギーの研究
- 細胞毒素・ウイルス毒素・環境毒素研究
- 免疫細胞による細胞障害活性の研究
- 細胞周期リアルタイム測定
- 100種類以上の株化細胞と初代培養細胞での実績

アプリケーション例

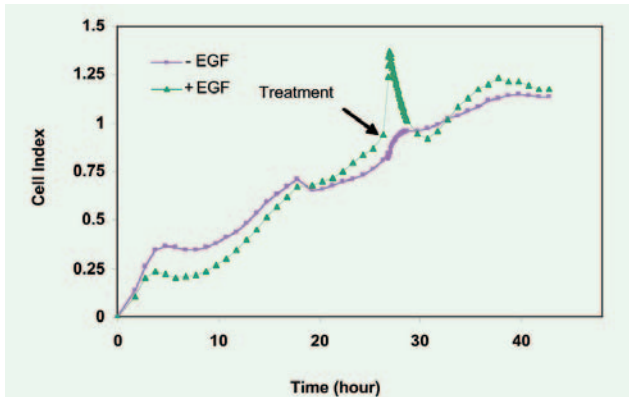
Paclitaxelによる細胞増殖阻害(15分間隔、H460細胞)



抗腫瘍化合物の抗腫瘍効果の経時変化が測定できます。

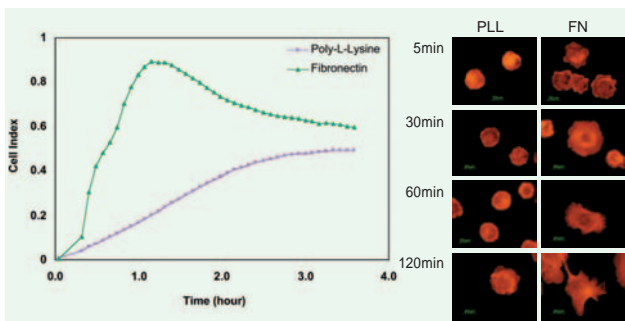
【次頁に続く】

EGF処理による細胞形態変化(3分間隔、Cos-7細胞)



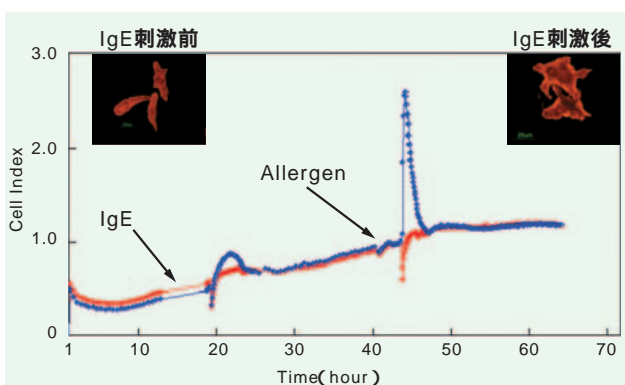
EGF処理による細胞の形態変化がリアルタイムで測定できます。

Poly-L-LysineとFibronectinコーティング プレートでの細胞接着と形態変化(3分間隔、NIH 3T3細胞)



異なるコーティング処理プレートでの細胞の接着と形態変化がリアルタイムで測定できます。

IgE-抗原刺激によるマストセルの活性化と脱顆粒



IgE-抗原刺激によるマストセルの形態変化がリアルタイムで測定できます。

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
581-84821	RT-CES 16X システム (16ウェル×6)	1セット	11,500,000
588-84831	RT-CES 96X システム (96ウェル)	1セット	12,000,000
583-84881	RT-CES 16X プレート (16ウェルプレート)	1セット (6個入り)	55,000
580-84891	RT-CES 96X プレート (96ウェルプレート)	1セット (5個入り)	120,000

SDS-PAGE用サンプルバッファー Wako サンプルバッファー(2ME+)(×4)

本品は、2-Mercaptoethanolを含むSDS-PAGE用の4倍濃縮サンプル調製液です。

組成

0.25mol/l Tris-HCl(pH 6.8), 8w/v% SDS, 40w/v% Glycerol, 0.02w/v% BPB, 20vol% 2-Mercaptoethanol

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
191-13272	Sample Buffer Solution(2ME+)(×4)	電気泳動用	25ml	7,600

サンプルバッファー(2ME-)(×4)

本品は、2-Mercaptoethanolを含まないSDS-PAGE用の4倍濃縮サンプル調製液です。

組成

0.25mol/l Tris-HCl(pH 6.8), 8w/v% SDS, 40w/v% Glycerol, 0.02w/v% BPB

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
198-13282	Sample Buffer Solution(2ME-)(×4)	電気泳動用	25ml	6,800

関連商品

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
--------	----	----	----	-----------

SDS-PAGE用バッファー

196-11022	Sample Buffer Solution (2ME+)(×2)	メルカプトエタノール含有Laemmli法サンプルバッファー(×2)	25ml	3,100
193-11032	Sample Buffer Solution (2ME-)(×2)	メルカプトエタノール不含Laemmli法サンプルバッファー(×2)	25ml	3,100
184-01291	Running Buffer Soln. (×10)	SDS含有Laemmli法トリスグリシンバッファー	1ℓ	5,200

タンパク質分子量マーカー

230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	着色済みタンパク質サイズマーカー (分子量:15,20,30,40,50,70,100,150k)	500μℓ	18,000
233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	発色プロシアン結合能を持つウェスタンサイズマーカー (分子量:16,25,35,42,50,60,80,100,120,150k)	250μℓ	20,000
134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	未着色タンパク質サイズマーカー (分子量:17,30,42,79,116,200k)	1ml用	12,800
131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	未着色タンパク質サイズマーカー (分子量:14,20,30,42,79k)	1ml用	12,800

染色キット

299-50101	Quick-CBB	脱色の要らないCBB R-250染色キット	2ℓ用	9,000
174-00553	Quick-CBB PLUS	固定、脱色の要らない1ポットタイプのCBB G-250染色キット	250ml	4,200
178-00551			1ℓ	11,000
299-13841	Silver Stain Kit <i>Wako</i>	高感度銀染色キット	10枚用	9,000
291-50301	Silver Stain Kit <i>Wako</i>	簡単に短時間で染色できる銀染色キット	10枚用	9,000
299-58901	Silver Stain MS Kit	グルタルアルデヒドを含まない質量分析に最適な銀染色キット	20回用	19,000
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	10分で銀染色並みの高感度に染色できるリバース染色キット	20回用	11,000

ポリアクリルアミドプレキャストゲル

SuperSep™ HG(高分離能ゲル)

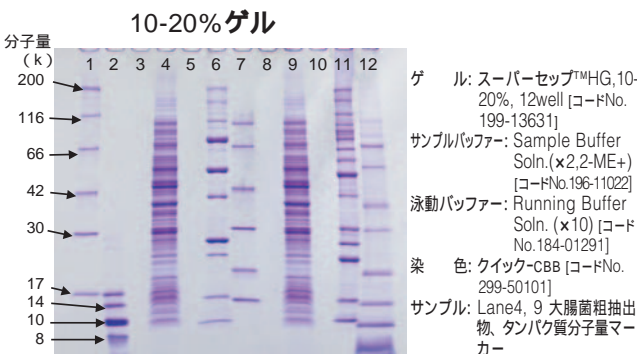
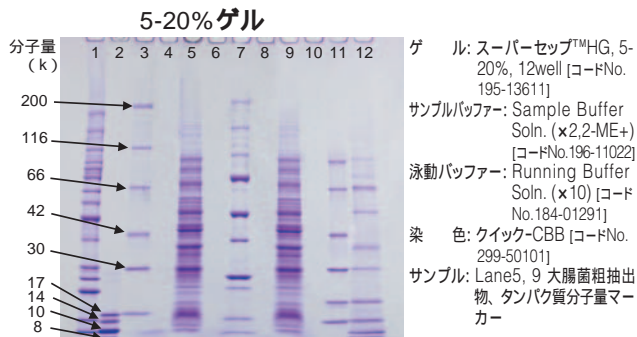
ポリアクリルアミドプレキャストゲル「スーパーセップ™」シリーズに高分離能タイプの「スーパーセップ™ HG」が加わりました。粗精製したサンプルをきれいに分離します。また、よりシャープなバンドを得ることができます。



特長

- 新製法により高分離を実現
- 半真空パック包装の採用により、ゲルの物理的安定性を確保
- 中性のゲル緩衝液により、ゲルの化学的安定性を確保

泳動例



仕様

ゲルプレートサイズ: 100(H) x 100(W) x 3(T) mm
 ゲルサイズ: 85(H) x 90(W) x 1(T) mm
 ウェル数: 12 or 17
 ウェル容積: 35μl (12well), 25μl (17well)
 (注: サンプルのアプライ量は、10μlを推奨します。)

泳動時間

電流 / 枚	10mA	20mA	40mA	80mA
泳動時間(分)	135	70	35	20

泳動時間は目安として下さい。

泳動バッファー

	Running Buffer	Sample Buffer
SDS-PAGE	Laemmli's method (x10) ¹⁾ 0.25mol/l Tris, 1.92mol/l Glycine, 1% SDS	Laemmli's method (x2) ²⁾ 0.125mol/l Tris-HCl, pH 6.8, 20% Glycerol, 4% SDS, 10% 2-Mercaptoethanol, 0.004% BPB
Native-PAGE	Davis's method (x10) 0.25mol/l Tris, 1.92mol/l Glycine	Davis's method (x2) 0.125mol/l Tris-HCl, pH 6.8, 20% Glycerol, 0.004% BPB
DNA/PAGE	(x10) 0.25mol/l Tris, 0.192mol/l Glycine or TBE Buffer ³⁾	(x2) 10mmol/l Tris, pH 7.9, 1mmol/l EDTA, 30% Sucrose, 0.004% BPB or Loading Buffer ⁴⁾

1) 10x Running buffer [コードNo. 184-01291]、2) 2x Sample Buffer [コードNo. 196-11022]、3) 5x TBE [コードNo. 318-90041]、4) Loading Buffer [コードNo. 313-90111]

使用期限

製造日から6ヶ月

コードNo.	品名	分画分子量範囲 (核酸のbp)	規格	容量	希望納入価格(円)
195-13611	SuperSep™ HG, 5-20%, 12well	10,000 ~ 200,000	電気泳動用	10枚	15,000
192-13621	SuperSep™ HG, 5-20%, 17well	(50 ~ 750)	電気泳動用	10枚	15,000
199-13631	SuperSep™ HG, 10-20%, 12well	10,000 ~ 130,000	電気泳動用	10枚	15,000
196-13641	SuperSep™ HG, 10-20%, 17well	(50 ~ 500)	電気泳動用	10枚	15,000

関連商品

ポリアクリルアミドプレキャストゲル

コードNo.	品名	濃縮ゲル	分画分子量範囲 (核酸のbp)	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSep™ 7.5%, 12well	-	40,000 ~ 200,000	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™ 7.5%, 17well	5%	(100 ~ 2,000)	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%, 12well	-	20,000 ~ 130,000	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™ 10%, 17well	5%	(50 ~ 500)	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%, 12well	-	14,000 ~ 80,000	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™ 12.5%, 17well	5%	(30 ~ 300)	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™ 15%, 12well	-	6,000 ~ 60,000	10枚	18,000
191-13071	SuperSep™ 15%, 17well	5%	(20 ~ 300)	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%, 12well	-	10,000 ~ 200,000	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™ 5-20%, 17well	-	(50 ~ 750)	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%, 12well	-	10,000 ~ 130,000	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™ 10-20%, 17well	-	(50 ~ 500)	10枚	12,000
190-13301	SuperSep™ 12.5%, 2D	-	14,000 ~ 80,000 (30 ~ 300)	10枚	18,000
197-13291	SuperSep™ 5-20%, 2D	-	10,000 ~ 200,000 (50 ~ 750)	10枚	18,000

簡易泳動槽 (差し込むだけでゲルがセッティングできるスーパーセップ専用簡易泳動槽)

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
190-13421	SuperSeparator™	1セット	38,000

がんの分子病態 新たな制御法の開発に向けて

大阪医科大学 解剖学第一講座 柴田 雅朗

2004年11月24日、千里ライフサイエンスセンターに於いて第20回Wakoワークショップ『がんの分子病態－新たな制御法の開発に向けて』が開催されました。私自身、非力ながらがんの基礎研究を続けており、私にとって今回のセミナーはその魅力的なテーマにまず惹かれ、プログラムを拝見すると第一線で活躍されている著名な先生方で講演は構成されており、胸躍る心持ちで参加させて頂きました。

今回のワークショップの労をお執りになった金倉 譲先生(大阪大院)から初めにご挨拶があり、がんの制圧を目指すには長期的展望に立って、がんの基本的分子病態を知る必要があるとの示唆に富んだお話を頂きました。

最初の演者の東大医科研の山本 雅先生は、がん遺伝子が有するチロシンキナーゼ活性と細胞のがん化についてのレビューを初めに分かり易くして頂きました。次いで先生のグループが発見されたTobの分子機構についてご紹介頂きました。Tobは主に核に局在し、Cyclin D1の発現を制御し、細胞増殖の抑制活性を有しております。チロシンキナーゼが活性化するとその下流で

ErkがTobをリン酸化し、リン酸化TobはもはやG1 Cyclinのpromoterを抑止出来なくなり、細胞増殖の抑制活性を喪失します。事実、Tob KOマウスは発がん剤に高感受性であり、またヒトのがんでTobの変異は見つかっておりませんが、肺がんでは50～60%の頻度でTobの発現低下が観察されるとの事でした。今後、Tobとがん発症との更なる因果関係を明らかにされてゆくものと思われま。また、がん以外にもTobは骨芽細胞活性の抑制や精子形成に関与しており、老人性骨粗鬆症や男性不妊といった種々の病態とも関わりを持ち、Tob Worldは益々興味深いものになってくると予測されます。

次いで、大阪大院の金倉 譲先生からは受容体型チロシンキナーゼ活性化による造血管系腫瘍の発症とその分子標的治療についてのご講演がありました。金倉先生のグループはキナーゼドメインの変異がc-Kitを恒常的に活性化させ、白血病を発症させる事を見出しておられます。また、Flt3も白血病発症に関与しており、急性骨髄性白血病の20～25%にFlt3のITD(Internal Tandem Duplication)変異が見つ

ています。また、7%がキナーゼドメインの変異であります。最近、慢性骨髄性白血病の治療薬として脚光を浴びているGlivec(STI571)は、チロシンキナーゼ活性の阻害剤であります。Glivecはc-Kitのキナーゼ活性だけでなく、Abl、PDGFの活性も抑制しますが、FIt3、EGF、c-Fmsなどのチロシンキナーゼ活性は抑制出来ません。つまり、Glivecは受容体に対する特異性を有しており、治療効果の期待出来るものと無効な増殖性疾患がある事を示しています。従って、対象となる疾患個々の分子病態を把握して、何が分子標的になるかを理解して治療戦略を立てなければならない事を強調されていました。このような先生の臨床の現場を意識した研究スタンスが、将来、より現実的な治療効果を生み出す根源になるのだらうと感じました。

九大生体防御医学研の中山敬一先生からは細胞周期ブレーキp27の分解とがんとの関わりについてのお話がありました。細胞周期に入っている細胞は実は極めて少数で(1%以下)、殆どの細胞集団は細胞周期から外れてG0期にあり、細胞をG0期で留まらせる機構の破綻こそが、がん発症の鍵を



総合企画の金倉 譲先生



会場風景

握るという発想から中山先生の講演は始まりました。G0期からG1期への移行は細胞周期のブレーキ役のp27によって妨げられており、p27が分解されるとこのブレーキは解除され、増殖が惹起されます。p27の分解はユビキチンリガーゼのSkp2によると報告されておりますが、中山先生のグループは幾つかの矛盾点よりSkp2以外の系を探索し、その結果、新規ユビキチン化酵素KPCを発見し、G0-G1期移行におけるp27分解の主役を成していることを突き止められました。また、Skp2はS-G2期でのp27分解を行っていました。これらの事実は、Skp2のみならずKPCの特異的阻害剤の開発は新たながん治療法の可能性を示唆しており、今後の展開が楽しみです。

大阪大院の高井義美先生のご研究は、「培養細胞がコンフルエントになると細胞の運動と増殖が停止するContact inhibitionが起き、がん細胞ではこれが消失する」という現象に端を発しております。そこで、先生のグループはContact inhibitionの分子機構を探り、NectinとAfadinからなる新しい細胞間接着装置を発見しております。また、ポリオウイルスの受容体であるNectin-like molecules(Necl)のうちでも、Necl-5はIntegrinとGrowth factor receptorとで協同して細胞の運動能や増殖を促進し、細胞同士が接触するとNecl-5とNectin-3が結合し、更にCadherinも加わり運動能・増殖能が低下します。高井先生のグループが見出したこれらの事実はContact inhibitionを見事に説明しております。また、Necl-5はがんで過剰発現しています。RasでtransformationしたNIH3T3細胞や結腸がん細胞を移植したマウスに対して、Necl-5をdownregulationする様な処置を施すと、その転移能が著しく抑制されます。この事実は、Necl-5という新たな標的分子をターゲットとしたがん治療に重要な示唆を与えるものであります。愛媛大の東山繁樹先生からは、膜



山本 雅 先生



中山 敬一 先生



高井 義美 先生



東山 繁樹 先生



稲澤 譲治 先生



北林 一生 先生



秋山 徹 先生

結合型増殖因子HB-EGFのプロセッシングとその分子機構についての最近の知見をご講演頂きました。先生のグループは膜型HB-EGFから遊離型へのプロセッシングを担う酵素ADAM12を発見し、更にADAM12を制御するPACSN3とEve-1を同定しておられます。“ADAM”に対して、“Eve”と命名されたところに、ちょっとしたユーモアとお人柄を感じました。切断された遊離型HB-EGFはアミノ末端側であります。興味深いことに先生は残りのカルボキシ末端側(HB-EGF-C)にも注目して解析を行っており、その結果、HB-EGF-Cは核内に移行し、これと結合する分子PLZFを同定しておられます。PLZFはCyclin Aなどの転写を抑制している分子です。従って、HB-EGFは膜型から遊離型へのプロセッシングにより2つの分子を生成する事になります。すなわち、アミノ末端側の遊離型HB-EGFはEGFRに結合することにより細胞増殖のアクセルをなし、カルボキシ末端側のHB-EGF-CはPLZFを核外へ移行させることにより細胞増殖のブレーキを解除するのです。先生のご研究によりEGFファミリーの細胞増殖シグナル伝達経路にまた新たな経路が付加されました。

東京医科歯科大の稲澤譲治先生のグループはCGH(Comparative Genomic

Hybridization)法で900例以上の腫瘍組織を解析し、20を越える新しいがん関連遺伝子を発見してきておられます。これらの成果は東京医科歯科大のWeb(URL <http://www.cgthmd.jp/>)でCGH Data Baseとして公開されています。稲澤先生方の開発した高精度ゲノムアレイは100kb ~ 数Mbレベルの微細ゲノム異常を網羅的に検出することが可能であります。目的別に様々なアレイを開発してきており、これらのアレイを用いてゲノム構造異常に基づく疾患の原因遺伝子の同定やがんの個性診断など医療の現場での診断ツールとして極めて有用であり、次世代医療であるオーダーメイド医療の輪郭が見え始めてきた様な気がしました。

国立がんセンターの北林一生先生は、ヒト白血病で生じる染色体転座や点突然変異において、標的となる転写因子のAML1複合体についてのご講演を頂きました。AML1複合体の機能異常が白血病の発症の鍵となる事が分かりました。また、AML1複合体の機能がHIPK1/2によるリン酸化により制御されていることから、HIPKは白血病治療の新たな標的分子として有効である可能性をお示し頂き、治療戦略の選択肢多様化への願いが感じられました。最後の演者の東大分子生物学研究

所の秋山 徹先生はがん抑制遺伝子 APCとWntシグナルに関する新たな研究成果をご紹介頂きました。Wntシグナルにおいて -cateninは、シグナルを受容体のある細胞膜から核内へ伝え、一方APCは -cateninと複合体を形成して、Proteasome-dependentな系で -cateninの分解を誘導します。APCに変異が生じると -cateninは分解されず、細胞内に蓄積して転写活性が引き起こされます。また、 -catenin自身に変異が生じてはやはり分解を免れ、同様のことが起きます。秋山先生のグループは -cateninの機能を阻止するICATを見出され、現にWntシグナルに異常の見られるがんでICATを強制発現させると増殖抑制が示されました。更にマイクロアレイを用いて、Wntシグナルが異常な場合において、BAMBIという標的遺伝子を同定されました。BAMBIはTGF RIのpseudo receptorであることから、TGF シグナル経路を阻止し、その結果として異常増殖が惹起されます。事実、がんではBAMBIが過剰発現しており、BAMBIを標的とした抗体治療応用への可能性をご提示頂き、更なる展開が見逃せません。

金倉 讓先生(大阪大院)から総括的なご挨拶があり、がんに関わる立役者が揃い、全ヒトゲノム解析も終了し、後は飛躍的な創薬開発が望まれるとのことのお話でありました。次いで、スポンサーシップを執っておられる和光純薬の岡田博男部長より「延命は古くからのテーマであり、今回のワークショップのテーマはまさにがんに立ち向かう延命のためのスイッチ探しであった」と述べられ、最後に講演演者の先生方への謝辞の後、閉会されました。

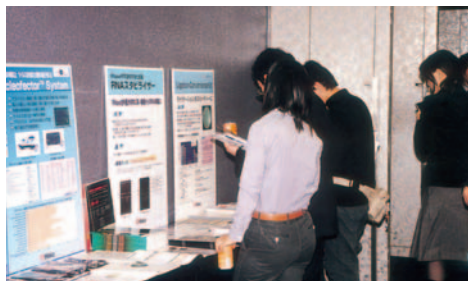
今回のワークショップを通して、腫瘍の違いによる特異的な増殖シグナルを見つけそれを阻止する治療戦略、また同じ増殖性疾患でも患者さん個々の遺伝子変異に基づく医療、いわゆる患者さん本位の医療(personalized medicine)という方向性が見えてきまし

た。今回、がん研究の世界のトップランナーの先生方の貴重なご講演を一挙一瞥のもとに拝聴させて頂き、先生方からは知識を与えて頂いただけでなく、その底知れぬ研究に対するエネルギーをも与えて頂きました。末筆になりました。

たが、ご講演の先生方そして本ワークショップのコーディネーターもされた金倉先生に感謝の念が尽きません。また、このような学術的なワークショップを企画・遂行された和光純薬の多くの熱いスタッフの方々に心から感謝申し上げます。



活発な質疑応答が行われた



当社製品展示風景

第20回 Wakoワークショップ

「がんの分子病態 新たな制御法の開発に向けて」

日時：平成16年11月24日(水) 10:00~17:00

場所：千里ライフサイエンスセンター ライフホール(5階)

総合企画：大阪大学大学院 医学系研究科

分子病態内科学(血液・腫瘍内科学)教授 金倉 讓 先生

講演プログラム

開催挨拶

はじめに

チロシンキナーゼからのシグナルと細胞がん化

造血シグナルと分子標的治療

細胞周期制御とがん

細胞の接着・運動・増殖の制御機構

膜結合型増殖因子と細胞増殖制御

がんのゲノム異常

白血病における転写とクロマチンの制御

がん抑制遺伝子の機能

おわりに

閉会挨拶

和光純薬

阪大院医 金倉 讓 先生

東大医科研 山本 雅 先生

阪大院医 金倉 讓 先生

九大生医研 中山 敬一 先生

阪大院医 高井 義美 先生

愛大医 東山 繁樹 先生

東医歯大難研 稲澤 讓治 先生

国立がんセ研 北林 一生 先生

東大分生研 秋山 徹 先生

阪大院医 金倉 讓 先生

和光純薬

1905年の化学を顧みて

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

特殊相対性理論が発表される

1905年はA. Einsteinの年である。化学には直接関係がなくても、Einsteinの特殊相対性理論などの世紀の業績はこの欄でも無視するわけにはいかない。1887年にA. MichelsonとE. W. Morleyが地球の絶対運動速度を測定しようとして、現れるはずの干渉による縞の測定を試みたが、精密な干渉計を用いても干渉縞がどうしても現れなかったことの説明が、19世紀末の物理学の大きい厄介な問題となっていた。1892年のG. F. Fitzgeraldの距離の短縮、1895年のH. A. Lorentzの質量の増加の概念での説明をもってしても総括的な理論とはなり得なかった。

そういう状況で、1905年に発表されたのがA. Einsteinの画期的な特殊相対性理論であった¹⁾。Einsteinは真空中では光の速度は観測者に対する運動と無関係に常に等しいとするMichelson-Morleyの実験結果と一致する仮定から出発して、高速になるにしたがって距離の収縮と質量の増加が起ることを総括的に説明する理論を導くことができた¹⁾。第1図がその報告の最初の



写真1. 若き日のA. Einstein(1900)

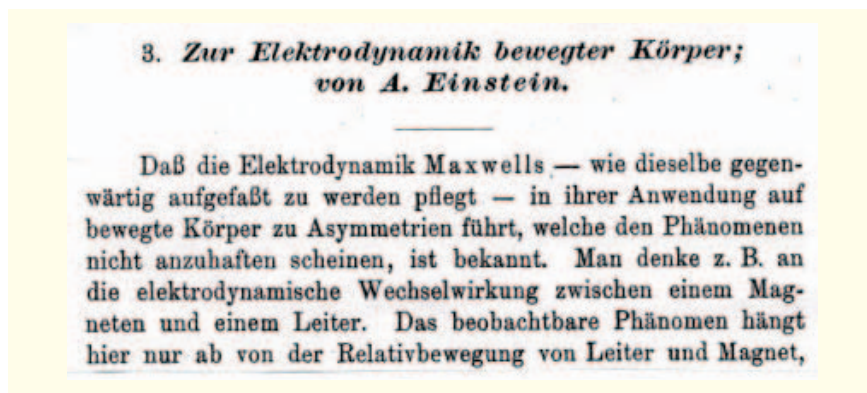


図1. 特殊相対性理論の論文の冒頭部

部分である。

相対性というのは速度が観測者に対するものとしてのみ意味をもち、絶対運動や絶対空間や絶対時間は存在し得ないとするものであった。これは短い距離の小さい速度の通常の世界の常識では理解し得ないように思われる。それは古典的なニュートン方程式で説明できるが、常識をはずれた大きい距離と大きい速度の世界ではアインシュタインの特殊相対性理論のみが成り立つということである。

この相対性理論から有名なアインシュタイン方程式 $E=mc^2$ (E:エネルギー、m:質量、c:光速)が導かれ、質量とエネルギーの等価性が証明されること

になった²⁾。

光電効果が量子論に組み入れられる

P. E. A. Lenardが1902年に、ある金属に光を照射すると、金属表面から電子が放射される光電効果を見出していた。1905年にEinsteinはプランクの量子論によってこの光電効果を完全に説明する理論を導き出した³⁾。そのことは逆にプランクの量子論に対して単に黒体放射の説明のための数学的技法に止まるものではない一般的な物理理論としての基礎を与え、物理定数としてのプランクの定数の正当性を証明するとともに、光量子論発展の基礎となつて、光の粒子性を認識する契機を与えることになった。Einsteinが1921年にノーベル物理学賞を受賞したのは相対性理論に対してではなく、この光電効果の理論の研究に対してであった。

ブラウン運動の方程式の提出

花粉を浮かべた静かな水中で花粉粒子が不規則な運動をすることをイギリスの植物学者R. Brownが顕微鏡下に観察したのが1828年であった⁴⁾。1902年にスウェーデンの化学者T. Svedbergはブラウン運動を小さい粒



写真2. 米国ワシントンにあるA. Einsteinの銅像

子にあらゆる方向から他の分子が衝突することによって起るランダムな運動であると説明した。

1905年にA. Einsteinが分子の衝突によるブラウン運動の可能性について理論的に解析して、物体が顕微鏡的な大きさまで小さくなると、ある瞬間にある方向から分子が衝突し、他の瞬間には違った方向から多く衝突することを理論的に説明し、ブラウン運動を記述する方程式を導いた⁵⁾。さらにその方程式の中のある変数を観測できれば、衝突する分子およびそれを構成する原子の大きさが推測できる可能性を指摘した。このことによってブラウン運動が分子の存在を証明することになった。

1908年になってJ. B. Perrinはコロイド粒子のブラウン運動にこのアインシュタインの方程式を適用して、アボガドロ定数を求めることに成功した⁶⁾。さらにR. A. Mullikanは油滴のブラウン運動からさらに精度の高いアボガドロ定数を決定した。

常磁性のランジュバン関数が導かれる

物体を磁場に入れると、磁場と反対方向に磁化される反磁性が発生することはM. Faradayによって見出され

ていた^{7,8)}。それに対して磁場の方向に磁化される性質を常磁性といわれ、P. Curieはその常磁性の磁化率は絶対温度に反比例することを実験的に見出してキュリーの法則と呼ばれていた⁹⁾。1905年になってP. Langevinがこの法則を理論的に説明するランジュバン関数を導入した¹⁰⁾。これは後にさらにJ. H. van Vleckによって温度依存性に関する定量的理論にまで発展した¹¹⁾。

複合イオンが発見される

P. Langevinはまたこの年に、大気中に数個あるいはそれ以上のガス分子が集合した複合イオンが存在していることを発見し、特に空気中に浮遊している質量の大きい複合イオンをランジュバンイオンと呼ばれた。これは大気中の塵埃に宇宙線の作用で生じたイオンが多数付着してできたものと考えられているが、質量が大きいために運動速度はきわめて遅い。

ベックマン沸点測定装置が考案される

1905年にE. O. Beckmannが液体または溶液の沸点を正しく測定するた

めに、沸騰中の過熱を避ける工夫をしたベックマン沸点測定装置を考案した。これをさらに改良して正確な沸点測定を行うようにしたのがF. G. Cottrellの分子量測定装置である。

ニッケル検出試薬ジメチルグリオキシムが見出される

この年、L. Tschugaeffによってニッケルの呈色試薬として有機キレート剤のジメチルグリオキシムが導入された。これはパラジウムやビスマスの比色にも使われる。

オゾン酸化法が開発される

オゾンはC. F. Schönbeinによって1840年に発見されていたが、そのSchönbeinが1855年にオゾンに二重結合を持つテルペンオイルに作用させてオゾン化物が生成することを認めた¹²⁾。その後S. A. HouzeauとA. Renardはオゾンにベンゼンに反応させて、そのオゾン化物を無定形白色物質として単離した¹³⁾。

このオゾン化の反応を広く不飽和有機化合物の溶液に適用して、オゾン酸化法を一般的な二重結合の酸化切断法として有機化学の有用な反応にまで発展させたのはドイツのC. D. Harriesであった。Harriesのオゾン酸化法に関する最初のもつた報告が出たのが1905年であり¹⁴⁾、第2図(次頁)はその時、Harriesが用いたオゾン発生装置の図である。

日本の有機化学の開拓者である眞島利行が明治40年(1907)にドイツに留学して最初に就いたのがこのHarries教授で、眞島は念願の日本の漆の成分の研究に不可欠な二重結合切断法のオゾン酸化を習得するために、キール大学のHarries研究室に赴いたのである。眞島は帰国後、持ち帰った



写真3. 実験室におけるP. Langevin

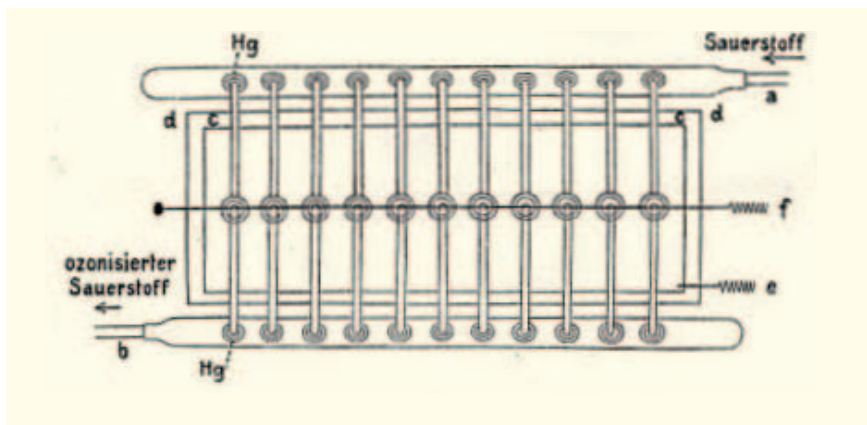


図2. C. D. Harriesのオゾン発生装置

オゾン分解装置を用いてウルシオールの研究を完成させた^{15,16)}。

このオゾン酸化で二重結合にオゾンが付加して生成するオゾニドの構造は1925年になってH. Staudingerによって提出された¹⁷⁾。

ケテンが単離される

ケテン $R_2C=C=O$ はもし生成しても直ちに重合するので単体としては存在しないと考えられていた。1905年になってH. Staudingerは塩化ジフェニルクロロ酢酸に亜鉛を作用させて、ジフェニルケテン(C_6H_5)₂C=C=Oをはじめて単離した^{18,19)}。このものは蒸留可能で融点90の黄色のプリズム晶であったが、水により容易にジフェニル酢酸に変化した。

さらにケテンの基本体 $H_2C=C=O$ はその翌々年にN. T. M. Wilsmoreによりアセトンを灼熱した金属線を通して熱分解することによって得られた^{20,21)}。このケテン自身は沸点-41の気体であり、工業的に重要な合成原料となった。ケテン製造のためのケテンランプは1931年にE. Ottoらによって作られた²²⁾。

-アミノ酸合成のセーレンセン反応が見出される

デンマークの生化学者S. P. Sørensenがフタルイソマロン酸エステルをアルキル化した後に加水分解、ついで脱炭酸して、-アミノ酸を合成する方法を開発し、セーレンセン反応と称せられた²³⁾。

インジゴ染色が多色になる

J. F. Baeyerによりインジゴが合成されたのは1880年であったが、その後Badische Anilin und Soda Fabrick A. G.で工業製産されたインジゴは天然藍を駆逐して、合成染料化学の道を開いた。しかしそのインジゴの色は青色に限られていたのが、1905年にP. Friedländerがチオインジゴを合成するにおよんで、インジゴ染料にオレンジ、赤、紫、褐、黒色の豊富な色彩を加えることになった。

セロファン発明される

スイスのJ. E. Brandenburgerがセロファンを発明した。セロファンは木材パルプを二硫化炭素で処理して得られるビスコースを巾の狭いガラスのすき間から希硫酸または硫酸アンモニ

ウム液中に押し出して、フィルム状に凝固させて得られる。

アセチレン工業始まる

1905年にドイツのWacker Griesheim Electron社がアセチレンを塩素化してテトラクロロエタンの製造を開始したのが、アセチレン工業の第一歩であった。アセチレン工業が本格化するのは1913年にドイツのConsortium社が水銀触媒を用いてアセチレンからアセトアルデヒドの製造を行なってからであるが、第一次世界大戦前後には多くの化学製品を製造する根幹工業にまで発展した。

局所麻酔剤ノボカインが合成される

局所麻酔剤として汎用されているノボカインnovokain、別名プロカインprocain、2-ジエチルアミノエチルp-アミノベンゾエート塩酸塩が、この年、A. Einhornによってはじめて合成された。

アルコール発酵の中間体が分離される

この年、ロンドン大学のリスター研究所のA. HardenとW. J. Youngが酵母抽出物のアルコール発酵の中間体としてフルクトース-1,6-ビスリン酸を単離した^{24,25)}。Hardenはブドウ糖発酵の研究を進めるうちに、発酵の活性が落ちた時に無機リン酸を加えると酵素反応の機能が回復することを見出した。奇妙なことに無機リン酸は消費されているのに生成物のアルコールにも二酸化炭素にもリンは含まれていないことに気がついた。そのために発酵の途中を調べてみて、糖分子にリ

ン酸基が2分子結合している代謝中間体が生成していることをつきとめたのである。現在これはフルクトース6-リン酸にさらにATPからリン酸が転移して生成したことがわかっていて、ハーデン-ヤングエステルと呼ばれている。

染色体は遺伝因子の集団とわかる

G. J. Mendelが1865年にエンドウ豆の実験で遺伝法則を発見した時、7種類の形質は独立の遺伝因子として遺伝すると考えられていた。1902年になり、W. S. Suttonが遺伝因子の担体は染色体であることを指摘したので、新たに問題が生じ、染色体の数だけではすべての遺伝形質が説明できないことがわかってきた。

1905年にW. Batesonは動物の遺伝の研究から、形質は独立に遺伝して行くのではなく、染色体は多数の遺伝因子を担っている集団であることをはじめて提唱した。これは直ちにT. H. Morganによって確かめられた。Batesonはまたgenetics遺伝学の語の名付け親でもあった。

高压科学の幕明け

超伝導体の研究、超硬質材料の合成、金属の押出、成型などに、今日では高压は欠くべからざる条件となっている。高温を得る方法は人類は古くから手にしていたが、高压を得る技術の開発はそれより遅れていた。

1905年に博士課程の学生であったアメリカのP. W. Bridgmanは高压下の研究を行うために当時の高压装置を根本的に改良することを志し、圧力漏れがなく、圧力が増加すると一層きつく押し込まれるような構造のパッキングを設計し、20,000気圧(1平方センチメートル当り20トン)の圧力に耐える装置を開発して、今日の高压科学の

基礎を築いた。

回転式真空ポンプが発明される

W. Gaedeがこの年、回転式の真空ポンプをはじめて考案した。その後Gaede自身もこのポンプに改良を重ねたが、後に同じ原理に基づくCencoの回転真空ポンプも現れた。

コットレル集塵機が発明される

銅山やセメント工場になくてはならないコットレル集塵機がこの年、F. G. Cottrellによって発明された。気体中の微粒子を正負の電極間に通して、陽電荷を負荷して電極に集めるという原理である。

元素ツリウムの発見者クレーベ 逝く

原子番号69ツリウムthuliumを粗エルビウム酸化物から分離して発見したスウェーデンの化学者Per Theodor Cleveがこの年6月18日にウプサラで亡くなった。Cleveはまたクロム、白金などのアンモニウム錯体の研究、スカンジウム、サマリウム化合物の研究でも知られていた。

〔参考文献〕

- 1) Einstein, A.: *Ann. Physik. Chem.*, 17, 891(1905)
- 2) Einstein, A.: *Ann. Physik. Chem.*, 18, 639(1905)
- 3) Einstein, A.: *Ann. Physik. Chem.*, 17, 132(1905)
- 4) Brown, R.: *Phil. Mag.*, 4, 161(1828)
- 5) Einstein, A.: *Ann. Physik. Chem.*, 17, 549(1905)
- 6) Perrin, J.: *Compt. rend.*, 149, 477(1909)
- 7) Faraday, M.: *Phil. Trans. Roy. Soc. (London)* 1, 21, 41(1846/1)
- 8) Faraday, M.: *Ann. Physik.*, 69, 289(1846)
- 9) Curie, P.: *Ann. Chim. Phys.*, 5, 289(1895)
- 10) Langevin, P.: *Ann. Chim. Phys. (Paris)* 5, 70(1905)
- 11) van Vleck, J.H.: "*The Theory of Electronic and Magnetic Susceptibilities*" Oxford(1932)
- 12) Schönbein, C. F.: *J. prak. Chem.*, 66, 272(1855)
- 13) Houzeau, A., Renard, A.: *Compt. rend.*, 76, 572(1873)
- 14) Harries, C. D.: *Ann. Chem.*, 343, 311(1905)
- 15) 「眞島利行先生 遺稿と追憶(東京化学同人)」(昭和45年)
- 16) 久保田尚志:「日本の有機化学の開拓者 眞島利行」第1~4回, 化学史研究, 30, 第1号, 26;第2号, 93;第3号, 159;第4号, 231(2003)
- 17) Staudinger, H.: *Ber.*, 58, 1088(1925)
- 18) Staudinger, H.: *Ber.*, 38, 1735(1905)
- 19) Staudinger, H.: *Ann. Chem.*, 356, 51(1907)
- 20) Wilsmore, N. T. M.: *J. Chem. Soc.*, 91, 1938(1907)
- 21) Wilsmore, N. T. M.: *Proc. Chem. Soc.*, 23, 229(1907)
- 22) Otto, E., Schröter, R. et al.: *J. prak. Chem.*, 130, 177(1931)
- 23) Sørensen, S. P.: *Z. physiol. Chem.*, 44, 448(1905)
- 24) Harden, A., Young, W. J.: *Proc. Chem. Soc.*, 21, 189(1905)
- 25) Harden, A., Young, W. J.: *Biochem. Z.*, 32, 173(1911)

固定化パラジウム触媒

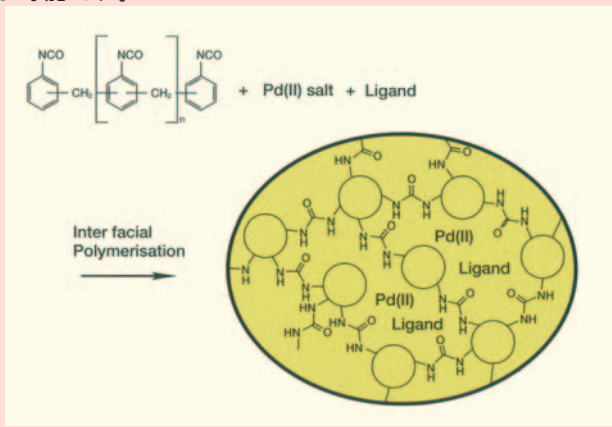
近日発売 



Pd EnCat™

Pd EnCat™は、パラジウム塩ならびに活性リガンドをマイクロカプセル化技術を用いて高密度架橋した尿素樹脂の中に封じ込めた固定化触媒です。触媒の回収が容易であり、繰り返し使用が可能です。

特長

- 最終品の残留金属と残留リガンドを低減
(残留金属：5ppm以下、残留リガンド：20ppm以下まで低減可能)
- 廃液の汚染を最小限に抑制
- 優れた機械強度と化学安定性を実現
- フィルタ-で簡単回収
- そのまま再使用しても効果を損なわず経済性もアップ
- パラジウム-カ-ボンに比較して安全性・作業性が飛躍的に向上
- 鈴木カップリング、Heck反応、カルボニル化、水素添加反応などさまざまな反応で効力を発揮



コードNo.	品名	Pd含量	Matrix	封入リガンド	規格	容量	予定希望納入価格(円)
161-21481	Pd EnCat™ 30	3.9-4.6%	30%	-	有機合成用	1g	10,000
167-21483		0.37-0.44mmol/g				5g	35,000
169-21482						25g	照会
165-21521	Pd EnCat™ 40	3.9-4.6%	40%	-	有機合成用	1g	10,000
161-21523		0.37-0.44mmol/g				5g	35,000
163-21522						25g	照会
168-21491	Pd EnCat™ TPP30	3.9-4.6%	30%		有機合成用	1g	11,000
164-21493		0.37-0.44mmol/g				5g	38,500
166-21492						25g	照会
161-21501	Pd EnCat™ TOTP30	3.9-4.6%	30%		有機合成用	1g	11,000
167-21503		0.37-0.44mmol/g				5g	38,500
169-21502						25g	照会

Pd EnCat™はアビシア(株)の登録商標です。

固定化触媒を用いた受託合成も行っておりますのでお問合せ下さい。

有機試薬カタログ 第2版発行!

2005年2月

カタログをご希望の方はご請求下さい。

7,000品目の新製品を追加




有機合成関連試薬の専用カタログ第2版を、内容を充実、レイアウトを変更して発行します。

収載品目

- 有機化合物
- アミノ酸、ペプチド(3量体まで)、核酸、糖(2糖体まで)、脂質類
- 有機金属
- 高純度金属
- 合成・精製用溶媒、担体
- 化成品

初版と比べて下記内容を充実しました。

- 各化合物に、構造式を記載しました。
- 各化合物に、Elsevier MDL社のMDL番号を記載しました。
- 化合物の物性情報(沸点、融点、密度/比重、屈折率、比旋光度、引火点)を充実しました。
- 巻末の索引に、CAS番号インデックスの他に、フォーミュラーインデックス、MDL番号インデックスを加えました。
- グリーンケミストリー関連試薬など特長のある商品には、本文に反応例を記載しました。

Methyl o-Bromobenzoate (7-2-*) C ₈ H ₇ BrO ₂ = 215.04 (910-24-4) (MFCD00018328)		W/M: カル 97.0-% (GC) W/S: カル 97.0-% (GC)	5g 2,700 324-40871 * 25g 6,500 322-40872 *
Methyl 3-Bromo-2-(bromomethyl)propionate C ₈ H ₉ Br ₂ O ₂ = 259.92 (2262-60-8) (MFCD00011834)		W/M: カル 98.0-% (GC) W/S: カル 98.0-% (GC)	1g 5,000 320-47781 * 5g 15,000 326-47783 *
Methyl 2-Bromobutyrate C ₆ H ₉ BrO ₂ = 191.03 (3196-15-4) (MFCD00009666) n_D^{20} 1.449-1.454		98+-%(GC) (①) 98+-%(GC) (①) 98+-%(GC) (①) W/M: カル 97.0-% (GC) W/S: カル 97.0-% (GC)	25g 1,900 138-09832 100g 4,500 130-09831 500g 18,000 132-09835 3,500 328-38402 * 500g 23,000 322-38405 *

収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。

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

<p>和光純薬時報 Vol.73 No.1 2005年1月15日 発行 発行責任者 松田知憲 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 株式会社 林欧文堂</p>	<p>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 jiho@wako-chem.co.jp</p> <p>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</p>
---	---