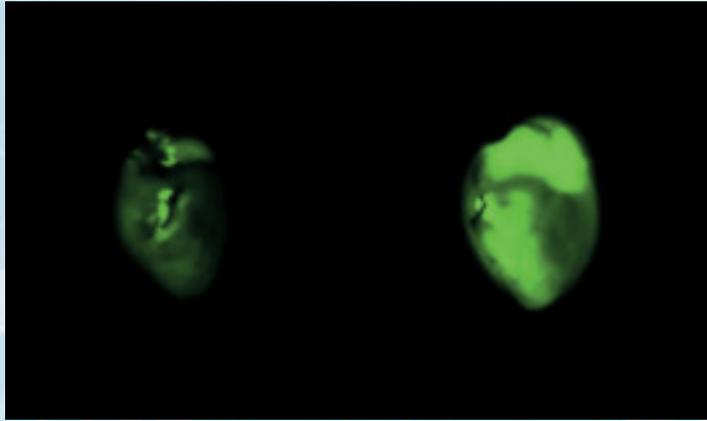


WAKO

和光純薬時報

July 2005
Vol.73 No.3



マウスを用いた心筋梗塞モデル実験における酸化バーストの可視化

冠動脈を1時間閉塞後、再灌流した心臓を $O_2^{•-}$ プローブを用いて検出した蛍光写真である。

左図:再灌流5分間。

右図:再灌流8分間。

このモデルでは再灌流7分後に酸化バーストが起こると言われており、それを裏付ける結果となった。

(データ提供:大阪大学大学院 薬学研究科 前田初男 助教授)

【総説】

「化学的脱保護反応を発蛍光機構とする蛍光プローブの設計開発」 前田初男 …… 2

〈テクニカルレポート〉

「新規な方法による高効率cDNAサブトラクション」 林田幸信 …… 5

「カチオン化マトリックスを用いるガングリオシドの質量分析」 田尻道子、和田芳直 …… 8

「食品に残留する農薬などのHPLC分析における前処理エビ試料中のテトラサイクリン系抗菌剤のHPLC分析」 吉田貴三子 ……10

〈Talking of LAL〉

「第60話 エンドトキシン試験法への適応」 土谷正和 ……14

〈生薬のはなし〉

「蟾酥(センソ)」 松田久司 ……12

【化学大家】

「小川正孝」 吉原賢二 ……25

【製品紹介】

有機合成

光学活性ジルコニウム触媒「(R)-3-I-ZrMS」…20
硫化ナトリウム五水和物…20

環境・分析

プレセップ® CM ……11
プレセップ®-C RPP (Short) ……11
生薬試験用標準品…13
水質分析用試薬…20
株エルメックス アクアテスト II ATS-100…21
LC/MS用溶媒…22
日本薬局方適合 生薬有効成分…22

生化学

カチオン化マトリックス…9
株シバヤギ レビス® レジスチン-マウス …15
スーパーセップ™PVDFメンブラン…18
電子レンジを用いたQuick-CBB PLUSの
応用例 *Data* ……19
アンサマイトシン P-3…19

細胞生物

過酸化水素プローブ「BES-H₂O₂」…4
βアミロイドELISAキット *Wako*…16
サイトカイン 大入り包装…23

遺伝子

DsDD cDNAサブトラクションキット *Wako*…7
S.cerevisiae ダイレクトトランスフォーメーションキット *Wako*…24
核酸ケーシング試薬「Bhc-ジアゾ」…28

機器

出芽酵母形質転換自動化システム…24

【お知らせ】

N/400ポリビニル硫酸カリウム (PVSK) 溶液の商品変更について…11
株ニッポンイージーティー siRNA カスタム合成サービスキャンペーン…28

1 はじめに

近年注目を集めているChemical Biology (化学生物学)は化学的発想・手法を用いて生物機能解明へアプローチする学問分野である。Chemical Biologyの代表的な研究領域の1つである「分子イメージング」研究では、生きた細胞・組織においてダイナミックに変動する分子を捕捉することにより生物機能を解析する。この「分子イメージング」研究をソフト面から支援するために、ターゲット分子に特異的かつ高感度な蛍光プローブの開発が重要である。

様々な蛍光プローブが既に開発されている¹⁾。それらのプローブ設計戦略においては多種多様な発蛍光反応が利用されているが、著者らは単純な脱保護反応に注目し蛍光プローブの設計開発を行なっている。すなわち、①蛍光性化合物フルオレセイン類のベンゼンスルホンル化体が殆ど無蛍光になるという事実ならびに②これらの保護体が、ある分子に特異的な反応に基づき脱保護されるならば、その分子に対する特異的のプローブになるという仮説に基づき、著者らは新規蛍光プローブの設計を行なってきた (Scheme 1)。脱保護反応を発蛍光機構とするプローブが無いわけではない。フルオレセイン等のフェノール性水酸基を有する蛍光色素について、それらの水酸基を修飾することにより人工基質に変換し

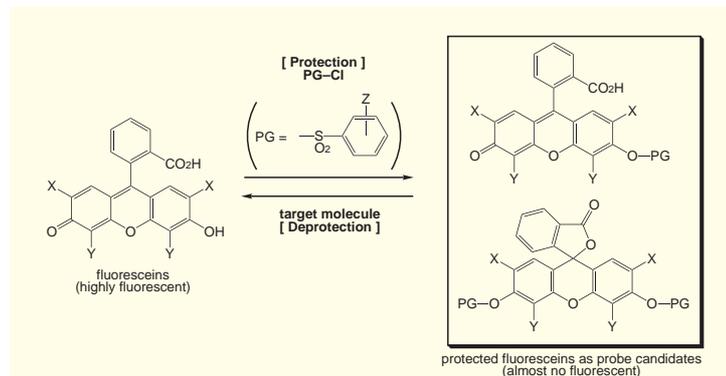
たものである。フォスファターゼやガラクトシダーゼの酵素アッセイに利用されるプローブがその例である。しかし、化学的な脱保護反応を発蛍光機構として利用するプローブはこれまで存在しなかった。本稿では、著者らの設計戦略に基づき、これまでに開発した過酸化水素 (H_2O_2)、スーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$)、チオールならびにセレノール蛍光プローブについて紹介したい。

2 H_2O_2 プローブ

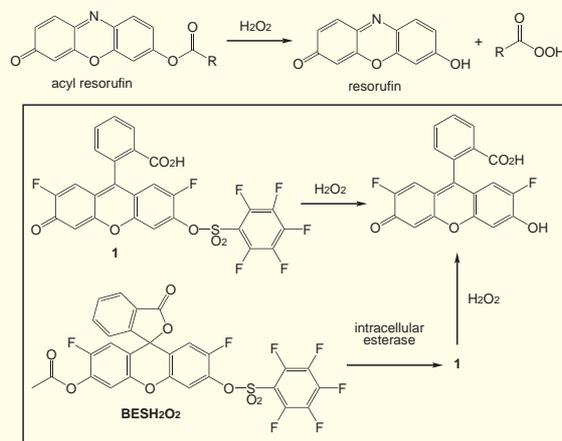
酢酸フェニル類との反応において H_2O_2 は α 効果により水に比べて強力な求核剤として作用する²⁾。この事実に基づき、フェノール性水酸基を持つ蛍光色素のアシル化体が、脱保護反応を発蛍光機構とする H_2O_2 プローブとして利用できると考えられた。そこで、蛍光色素としてレゾルフィンを用いて、様々なアシル化レゾルフィンについて H_2O_2 プローブとしての実用性を評価した (Scheme 2)³⁻⁵⁾。その結果、それらは H_2O_2 の蛍光分析には利用できるが、エステラーゼによっても加水分解を受けることから細胞系への適用は不可能であった。そこで、エステル基よりもエステラーゼに対して高い抵抗性を有するスルホン酸エステル、つまり、ベンゼンスルホンル化フルオレセイン類に着目し、更に検討を行なった。幸運に

も H_2O_2 蛍光プローブとして 1 (Scheme 2) を開発できた⁶⁾。フルオレセイン ($\phi = 0.85$) を基準として見積もった 1 の相対量子収率は 0.010 である。ほぼ無蛍光の 1 は H_2O_2 と反応し、強い蛍光を持つジフルオロフルオレセインへ効果的に変換される。この脱保護反応は H_2O_2 によって特異的に誘起され、 $O_2^{\cdot-}$ 、ヒドロキシルラジカル ($HO\cdot$)、*t*-ブチルヒドロペルオキシド (*t*-BuOOH)、一酸化窒素 ($NO\cdot$)、ペルオキシナイトライト ($ONOO^-$) に対して 1 は殆ど応答を示さない。期待したとおり、エステラーゼに対しても安定である。また、モノ保護体であるため 1 は親水性が高く、その EtOH 溶液を緩衝液で 200 倍以上に希釈して用いることができる。汎用されている H_2O_2 プローブであるジクロロジヒドロフルオレセイン (DCFH) は、酸化反応を発蛍光機構とする。その結果、DCFH は H_2O_2 だけでなく他の活性酸素種や酸化酵素に対しても応答を示す⁷⁾。DCFH に比べて 1 が H_2O_2 に対して非常に高い特異性を示したのは、発蛍光機構として酸化反応ではなくペルヒドロリシス (加過酸化水素分解) を活用したことによる。

細胞内 H_2O_2 の選択的可視化は、1 のアセチル化体 BESH₂O₂ (Scheme 2) を用いて行なうことができる。光照射下において刺激剤を使い分けることにより、任意の活性酸素種を恣意的に



Scheme 1.

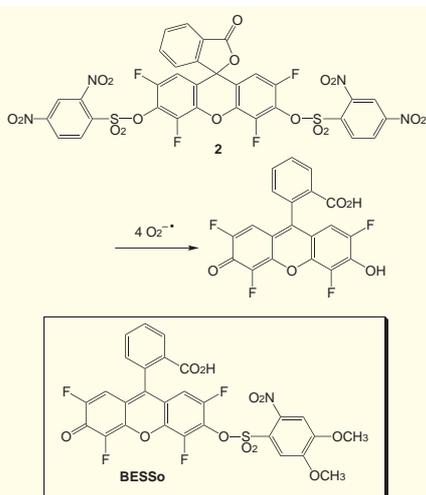


Scheme 2.

発生することができる淡水性緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* をモデル細胞として用いた検討により、 BESH_2O_2 の H_2O_2 プロープとしての有用性が示された。すなわち、暗条件下、室温で30分間処理することにより BESH_2O_2 を負荷した緑藻を、 H_2O_2 を発生する刺激剤・銅(II)イオン添加培地中、光照射下培養した時のみ、刺激剤濃度に依存した蛍光応答が得られた。このような特異性は、DCFHのジアセチル化体(DCFH-DA)を用いた場合には全く観察されなかった。また、この緑藻を用いた検討により1が一重項酸素($^1\text{O}_2$)にも応答しないことが示された。DCFH-DAに比べて非常に特異性の高い H_2O_2 プロープ BESH_2O_2 は活性酸素研究における新しいツールとして活用されるものと大いに期待している。

3 $\text{O}_2^{\cdot-}$ プロープ

H_2O_2 プロープの開発過程において、2 (Scheme 3) が $\text{O}_2^{\cdot-}$ プロープとして利用できることを見出した⁸⁾。2は活性酸素種の中では $\text{O}_2^{\cdot-}$ に対して非常に高い特異性を示す。その結果、ホルボールミリストアートアセテート(PMA)刺激した好中球が細胞外に産生する $\text{O}_2^{\cdot-}$ を2を用いることにより感度よく検出



Scheme 3.

できた。この時観察された応答が $\text{O}_2^{\cdot-}$ 由来であることは、スーパーオキシドジスムターゼの添加実験により確認した。しかし、2はグルタチオンや還元酵素系に対して無視できないレベルで蛍光応答を与える。特に、グルタチオンは細胞内にmMレベルで存在するため、細胞内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ の可視化に2は適さないと考えられた。そこで、2をリード化合物として更に分子設計を行なったところ、グルタチオンにも全く応答を示さない $\text{O}_2^{\cdot-}$ 特異的プロープとして BESSo (Scheme 3) の開発に成功した⁹⁾。BESSoを用いることによりPMA刺激した好中球が産生する $\text{O}_2^{\cdot-}$ をより高感度に検出できた。また、2に比べてモノ保護体である BESSo は親水性が高く、希釈水溶液としても使用し易いという利点もある。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ の可視化はこれまでヒドロエチジン(HE)を用いて行なわれてきた。しかし、その発蛍光反応は $\text{O}_2^{\cdot-}$ による酸化に基づくため、DCFHと同様に特異性に問題がある。HEの問題点を克服する高特異的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 蛍光プロープ BESSo は、 BESH_2O_2 とともに、活性酸素研究の発展に大いに貢献すると信じてやまない。

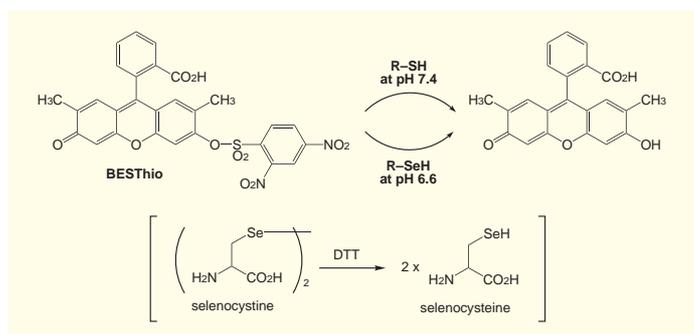
4 チオールプロープ

$\text{O}_2^{\cdot-}$ プロープの開発過程に得た知

見に基づき、新規高感度チオールプロープとして BESThio (Scheme 4) の開発に成功した¹⁰⁾。チオール蛍光プロープの用途は、生体高分子のラベル化剤、HPLC分析における誘導体化試薬および酵素アッセイにおける指示試薬である。既存のチオール蛍光プロープの多くは水溶性が低いいため、酵素アッセイに用いる場合、酵素反応と検出反応を独立して行なう必要がある。従って、現在市販されているチオール蛍光プロープは専らラベル化剤または誘導体化試薬として利用されている。一方、BESThioは、モノ保護体であるため親水性が高く、そのEtOH溶液を緩衝液で200倍以上に希釈した水溶液として用いることができる。その結果、アセチルまたはブチリルチオコリンを基質として用いるコリンエステラーゼアッセイも BESThio を用いて構築できた。このコリンエステラーゼアッセイは、アルツハイマー型痴呆症治療薬として近年注目されているコリンエステラーゼ阻害剤の高感度簡便スクリーニング法としても利用できた。他のチオール定量に基づく蛍光酵素アッセイも BESThio を活用することにより開発できると考えている。

5 セレノールプロープ

BESThioはpH 6.6ではチオールには殆ど応答を示さないため、セレノールに特異的なプロープとして利用できる (Scheme 4)¹¹⁾。過剰のジチオトレ



Scheme 4.

トール(DTT)共存下セレンシスチンから発生するセレンシステインをBESThioは高感度に検出できた。また、BESThioを用いることによりセレンプロテインであるチオレドキシシリダクターゼのセレンシステイン残基数を簡単に決定できた。セレンは酸化ストレスに対する生体防御機構を担う微量必須元素である。生体内における含セレン化学種は主にセレンシスチンである。セレンシステインは遺伝子産物であるセレンプロテインの構成アミノ酸であり、これまで約35種のセレンプロテインが同定またはその存在が推定されている。セレンを含有するセレンプロテインは重要な生物機能を担っていると考えられているが、未だその機能が不明なものも多い。従って、生体セレン化合物の簡便な分析法はセレンプロテインの機能・構造解析研究に不可欠である。しかし、これまでセレンール蛍光プローブは全く開発されていなかった。BESThioはこの領域の研究も支援できる多機能プローブである。

6 おわりに

以上、発蛍光機構として化学的脱保護反応に着目することにより著者がこれまでに開発した蛍光プローブについて解説した。BESH₂O₂、BESS₀ならびにBESThioは、感度、特異性

ならびに物性の観点から実用性の高い蛍光プローブとして利用できると考えている。今後、読者の御批判をおおぎつつ、これらのプローブをより実用的なものへと育てていくとともに、他の生体分子に対する蛍光プローブを同様な戦略に基づき開発していく所存である。

〔参考資料〕

- 1) Haugland, R. P.: "Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 9th ed.", Molecular Probes, Eugene (2002).
- 2) Bartoli, G. and Todesco, P. E.: *Acc. Chem. Res.*, **10**, 125-132 (1977).
- 3) Maeda, H., Matsuura, S., Nishida, M., Senba, T., Yamauchi, Y. and Ohmori, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 294-298 (2001).
- 4) Matsuura, S., Yamauchi, Y., Ohmori, H. and Maeda, H.: *BUNSEKI KAGAKU*, **50**, 475-479 (2001).
- 5) Maeda, H., Matsuura, S., Nishida, M., Yamauchi, Y. and Ohmori, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 169-174 (2002).
- 6) Maeda, H., Fukuyasu, Y., Yoshida, S., Fukuda, M., Saeki, K., Matsuno, H., Yamauchi, Y., Yoshida, K., Hirata, K. and Miyamoto, K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 2389-2391 (2004).
- 7) Maeda, H.: *ぶんせき*, **11**, 643-644 (2002).
- 8) Maeda, H., Yamamoto, K., Nomura, Y., Kohno, I., Hafsi, L., Ueda, N., Yoshida, S., Fukuda, M., Fukuyasu, Y., Yamauchi, Y. and Itoh, N.: *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 68-69 (2005).
- 9) Maeda, H., Yamamoto, K., Kohno, I., Hafsi, L. and Itoh, N.: in preparation.
- 10) Maeda, H., Matsuo, H., Ushida, M., Katayama, K., Saeki, K. and Itoh, N.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2922-2925 (2005).
- 11) Maeda, H., Katayama, K., Matsuno, H. and Itoh, N.: *J. Am. Chem. Soc.*, in press (2005).



活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS)

分子状酸素から発生するO₂^{•-}、H₂O₂、HO[•]、¹O₂などの反応性の高い化学種の総称。正常な生体においても、呼吸により取込まれる分子状酸素の数%がROSに変換される。しかし、生体はROSの消去機構やROSとの反応により生成する酸化タンパク質や酸化DNA/RNAの除去・修復機構を備えている。これらの防御機構が対応しきれないレベルでROSが発生すると、生体高分子の酸化に起因する細胞障害が起こる。また、ROSは、単なる細胞障害を引き起こすだけでなく、様々な転写因子や酵素を誘導し、増殖・分化・老化・細胞死といった細胞の一生を左右するメッセンジャーとしても作用すると考えられている。

コリンエステラーゼアッセイ

アセチルチオコリンまたはブチリルチオコリンから酵素反応により発生するチオコリンをエルマン試薬 [5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)] を用いて検出する吸光度法が汎用されている。このアッセイでは、チオール/ジスルフィド交換反応により発生する5-thio-2-nitrobenzoic acidを412nmで検出する。

セレンプロテイン

遺伝子にコードされている21番目のアミノ酸・セレンシステインを含むタンパク質の総称。代表的なものとして、抗酸化酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼおよびチオレドキシシリダクターゼ、酵素活性は持たないが重要な生体機能を担っていると考えられているセレンプロテインPやWなどがある。一般的なセレンプロテインは、セレンシステイン1残基を含むサブユニットから構成されているが、セレンプロテインPのサブユニットはセレンシステイン10残基を含む。セレンが抗酸化生体機能に深く関わること及び非常にレアなタンパク質であることから、セレンプロテインは近年注目されている。

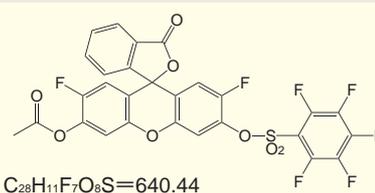
Products

近日発売 Wako

H₂O₂に特異的な蛍光プローブ

BES-H₂O₂ [3'-O-Acethyl-6'-O-pentafluorobenzenesulfonyl-2',7'-difluorofluorescein]

BES-H₂O₂は、過酸化水素に高選択的に応答する蛍光プローブです。スーパーオキシド、ヒドロキシルラジカル及び一重項酸素 (¹O₂) には応答せず、過酸化水素だけに応答します。



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-15381	BES-H ₂ O ₂	細胞生物学用	1mg	25,000

新規な方法による高効率cDNAサブトラクション

和光純薬工業株式会社 ゲノム研究所 林田 幸信

機能、性質の異なる細胞または組織間においては、発現量の異なる遺伝子が存在しており、それらは細胞・組織の機能において重要な役割を果たしています。このような遺伝子を取得することは、細胞・組織の機能や発現機構の解明などに有用です。

cDNA Subtraction法は、細胞・組織特異的に発現する遺伝子を同定する極めて効果的な手法の一つで、これまでに、ハイドロキシアパタイト・クロマトグラフィー法、アビジン・ビオチン結合法、ラテックス・ビーズまたはカラムなどを用いたオリゴ(dT)固相法、アビジン・ビオチン・磁気ビーズ法などの方法が報告されています。上記方法はハイブリッド形成した二本鎖cDNAまたはRNA-DNAハイブリッドと分離し、Tester特異的に発現している遺伝子を濃縮します。また、これらの方法はいずれも物理的結合または吸着を利用しており、Testerに特異的に発現している遺伝子由来の一本鎖RNAまたはcDNAとハイブリッド形成した二本鎖cDNAまたはRNA-DNAハイブリッドとを分離します。しかしこれらを厳密に分離することはできず、ハイブリッド形成した二本鎖cDNAまたはRNA-DNAハイブリッドが混在してしまうという問題がありました。その結果、上記方法では、Tester及びDriver両方

に発現している遺伝子、例えばハウスキープ遺伝子などの混入が多く、高効率にTester特異的に発現している遺伝子を濃縮することはできませんでした。また、操作が煩雑で作業工程が多く、時間と高度なテクニックが要求されていました。

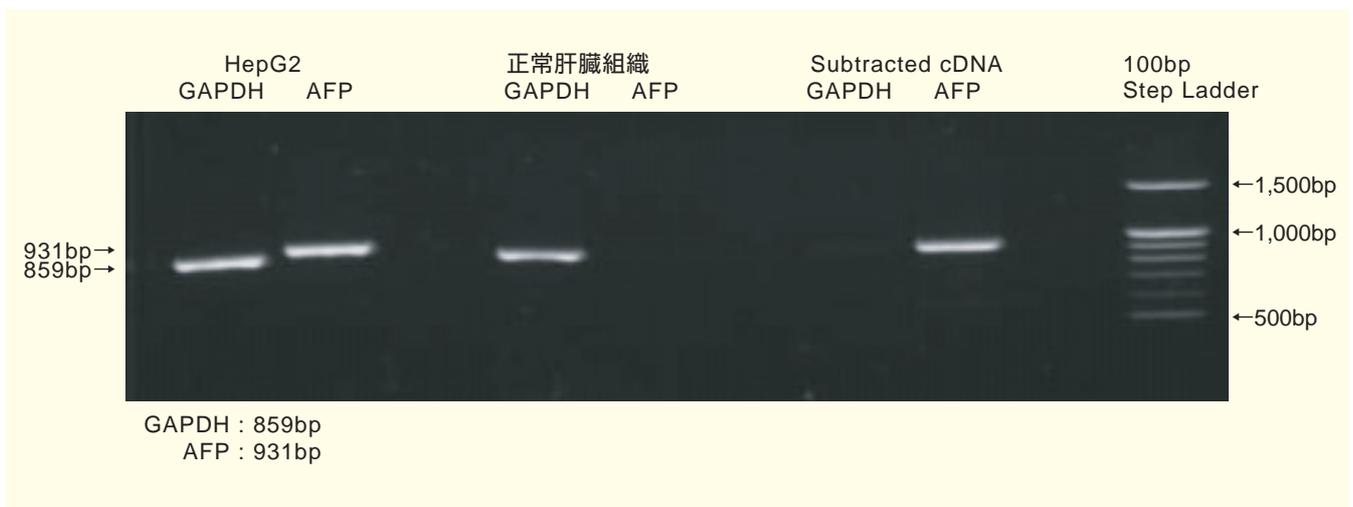
現在、市販されているcDNA Subtractionキットも、数回の長時間にわたるハイブリダイゼーションが必要であり、その作製に4日を要します。特に、ベクター配列の影響によりcDNA Libraryをスタート材料として用いることができないため、毎回、mRNAからTester及びDriver cDNAを準備する必要がありました。

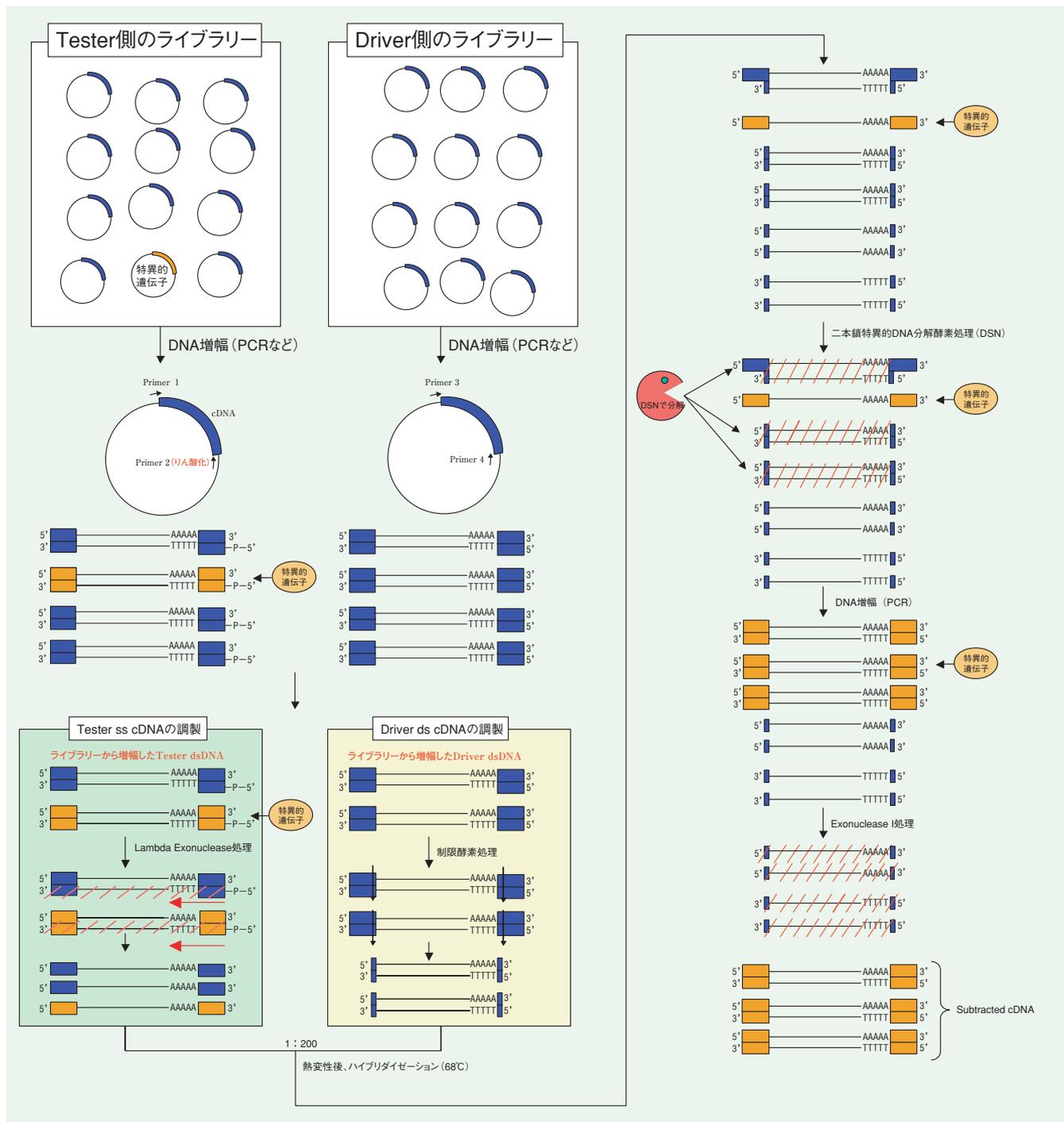
cDNA Subtraction法以外に細胞・組織特異的に発現する遺伝子を同定する方法としてDifferential display法やcDNAをスポットしたDNAチップ(マイクロアレイ)があります。Differential display法は高発現なmRNAばかりが増幅し、偽陽性バンドが多く現れるという問題点があり、また、時間と労力を必要とします。一方、DNAチップはチップやハイブリダイゼーション、標識プローブによる影響が大きく、期待していた程の結果が出ていないのが現状です。

DsDD(Duplex-specific Direct Digestion)cDNA Subtraction Kit

Wakoは、cDNA Libraryから調製したTester及びDriver cDNAを用いて、双方の細胞・組織に共通に発現している遺伝子同士をハイブリッド形成させ、二本鎖特異的DNA分解酵素であるDuplex-specific nucleaseによって、そのハイブリッドcDNAを分解した後、ハイブリッド形成せずに残ったTester由来一本鎖cDNAを増幅し二本鎖cDNAとします。その後、主として残存するDriver由来一本鎖cDNAをExonuclease Iによって分解除去する方法です。高い効率で、Tester特異的に発現する遺伝子由来のcDNAのみを濃縮することができます。例えば、がん細胞・組織の特異的な機能、性質を解析したい場合には、Tester cDNAをがん細胞・組織、Driver cDNAを正常細胞・組織から調製して、がん細胞・組織特異的に発現している遺伝子由来cDNAを濃縮することができます。DsDD cDNA Subtraction Kit Wakoは、cDNA Libraryを材料として用いることができ、全工程を2日で行うことができる画期的な技法です。

そこで我々はヒト肝臓がん由来のHepG2細胞及び、ヒト正常肝臓組織由来のcDNAライブラリーを用いてDsDD cDNA Subtraction Kit Wakoによるサブトラクションを行い、高発現ハウスキープ遺伝子である





DsDD cDNA Subtraction Kit Wakoの原理

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)とHepG2細胞で特異的に発現しているalpha-fetoprotein (AFP) 遺伝子を用いて、Subtracted cDNAの評価を行いました。

HepG2 cDNA (Tester cDNA)、

正常肝臓組織cDNA (Driver cDNA)、及びSubtracted cDNAを、それぞれ1ngを鋳型としてDNA増幅し、電気泳動で確認しました。

高発現ハウスキーピング遺伝子であるGAPDHは、HepG2 cDNA及び、正常肝臓組織cDNAで増幅が確認で

きますが、Subtracted cDNAでは確認できません。一方、HepG2特異的発現遺伝子であるAFPは、正常肝臓組織cDNAでは増幅が確認できませんが、Subtracted cDNAにおいてはHepG2 cDNAと同程度の増幅が認められます。またリアルタイム

PCRによりHepG2 cDNAとSubtracted cDNAのGAPDH及びAFPの増幅量を比較すると、Subtracted cDNAのGAPDHは約1/1,000に減少、AFPはサブトラクト前後で変化がありませんでした。これらの結果から、DsDD cDNA Subtraction Kit *Wako* によって得られたSubtracted cDNAは、HepG2及び正常肝臓組織に共通

に発現している遺伝子はサブトラクトされ、HepG2に特異的に発現している遺伝子を効率よく濃縮できていることが確認できます。DsDD cDNA Subtraction Kit *Wako*は疾患関連遺伝子の探索、細胞誘導による遺伝子発現変動、トランスジェニックやノックアウトマウスの遺伝子改変による発現変動など、多くの研究分野での使用が考えられます。



Tester : 機能、性質を解析したい組織または細胞、疾患組織・細胞などの場合が多く、今回の実験例では肝臓がん細胞を選択している。

Driver : Tester特異的機能、性質以外はほぼ同様の形態を示すものが理想であり、今回の実験例では正常肝臓組織を選択している。

Products

和光純薬の新規方法によるサブトラクションキット

DsDD cDNA サブトラクションキット クー

Tester cDNAがそのままの形状で取得できます。

特長

- cDNA Libraryから作製が可能
- Tester及びDriverの優れた選択性
- Duplex-specific nucleaseによる2本鎖DNAの除去法を採用
- 操作が簡便であり、作業工程が少なく2日で終了

内容

- Lambda Exonuclease 5 μ l \times 1本
- 10 \times Lambda Exonuclease Buffer 25 μ l \times 1本
- 4 \times Hybridization Buffer 25 μ l \times 1本
- Duplex-specific nuclease 5 μ l \times 1本
- 2 \times Duplex-specific nuclease Buffer 25 μ l \times 1本



- Exonuclease I 5 μ l \times 1本
- 10 \times Exonuclease I Buffer 25 μ l \times 1本
- Ethachinmate 50 μ l \times 1本
- Stop Solution 50 μ l \times 1本
- 3mol/l Sodium Acetate, pH 5.2 200 μ l \times 1本

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-62001	DsDD cDNA Subtraction Kit <i>Wako</i>	遺伝子研究用	5回用	98,000

関連商品

コードNo.	品名	[メーカー]	規格(メーカーコード)	容量	希望納入価格(円)
574-98041	TOPOTAQ DNA Polymerase	[Fidelity Systems, Inc.]	(T016)	100units	25,000
290-61501	Lambda Exonuclease		遺伝子研究用	1,000units	14,000
580-69991	Duplex-specific nuclease (50 Kunitz-unit)	[Evrogen]	(EA001)	1set	77,400
294-61401	Exonuclease I		遺伝子研究用	4,000units	15,000
043-29291	dNTP Mixture		分子生物学用	0.2ml	9,000
311-90151	Phenol/ Chloroform/ Isoamyl Alcohol (25:24:1)	[(株)ニッポンジーン]	—	250ml	15,000
052-07221	Ethanol (99.5)		分子生物学用	100ml	1,800
546-01651	100bp DNA Step Ladder (100-1.5kbp)	[Wako Chemicals USA]	—	30 μ g	14,000
312-01193	Agarose S	[(株)ニッポンジーン]	—	100g	12,000
313-90035	50 \times TAE	[(株)ニッポンジーン]	—	500ml	9,000
314-90261	6 \times Loading Buffer Triple Dye	[(株)ニッポンジーン]	—	1ml \times 3	2,500
315-90051	Ethidium Bromide Solution	[(株)ニッポンジーン]	—	10ml	9,000
316-90101	Distilled Water, Deionized, Sterile	[(株)ニッポンジーン]	—	100ml	4,000

正常cDNAライブラリーは当社取扱いのBioChain社にて取扱っております。

カチオン化マトリックスを用いるガングリオシドの質量分析

科学技術振興機構, CREST 田尻 道子
大阪府立母子保健総合医療センター研究所 和田 芳直

ガングリオシドはシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質の総称である。ガングリオシドはおもに細胞表面に存在し、細胞表面の陰性電荷に寄与している。細胞識別および細胞基質相互作用の関与、EGF(上皮増殖因子)、NGF(神経成長因子)など各種増殖因子受容体機能の修飾、神経細胞の突起進展作用、コレラ毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素など細胞毒素の受容体分子、がん化や老化に関連する分子など多彩な生理活性が知られる。

個々のガングリオシドはしばしばGM3、GM2、GM1、GD1a、GT1bなどと略記される(L.Svennerholmの命名法)。Gはガングリオシド基本骨格(Galβ1→3GalNAcβ1→4Galβ1→4Glcβ1→1Cer)、M、D、Tは含まれるシアル酸の数(モ

ノ、ジ、トリ)を意味し、a、b、cはガングリオシド基本骨格の還元性側ガラクトースに結合するシアル酸残基の数によって分類される(図1)。

シアル酸含有分子の質量分析(MS)は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(matrix-assisted laser desorption/ionization; MALDI)法あるいはエレクトロスプレーイオン化(electrospray ionization; ESI)法により行われているが、シアル酸との結合が不安定で、イオン化のために与えられるエネルギーによって脱離を起こしやすいため、比較的難しい。しかし、Naなどのアルカリ金属によってある程度はイオン化に伴う開裂が抑えられることが知られている。

一方、正イオンモードで測定した場合は試料に含まれるNaやKのために、Na付加イオンやK付加イオンが観測され、やや複雑なマススペクトルとなることが多い。陰性電荷をもつので負イオンモードが使われることも多く、その場合には主に[M-H]⁻が観測されシンプルなマススペクトルが得られるが、感度はよくない。

今回はMALDI正イオン測定において、使用するマトリックスDHB(2,5-dihydroxybenzoic acid)をナトリウム塩あるいはリチウム塩とすることで得られる効果を、シアル酸含有糖脂質であるガングリオシドについて検討した。

試料はガングリオシドGM3(18,2)とガングリオシドGD1aを用い、それぞれ50%メタノールに溶解し、50pmol/μLにした。マトリックスにはDHB(10mg/mL)とDHBナトリウム(10mg/mL)またはDHBリチウム(10mg/mL)の9:1混合物を用い、DHB単独、あるいはDHBにNaClを0.02mg/mLになるように加えたマトリックス溶液の場合と比較した。溶媒には30%アセトニトリル0.1%トリフルオロ酢酸を用いた。

マトリックス溶液と試料溶液を1:1に

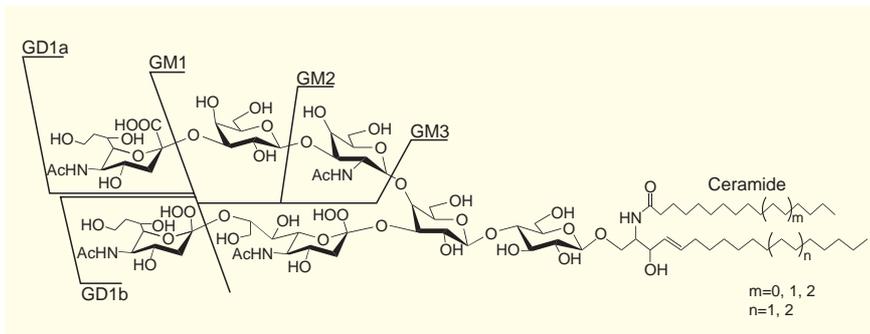


図1. ガングリオシドの構造

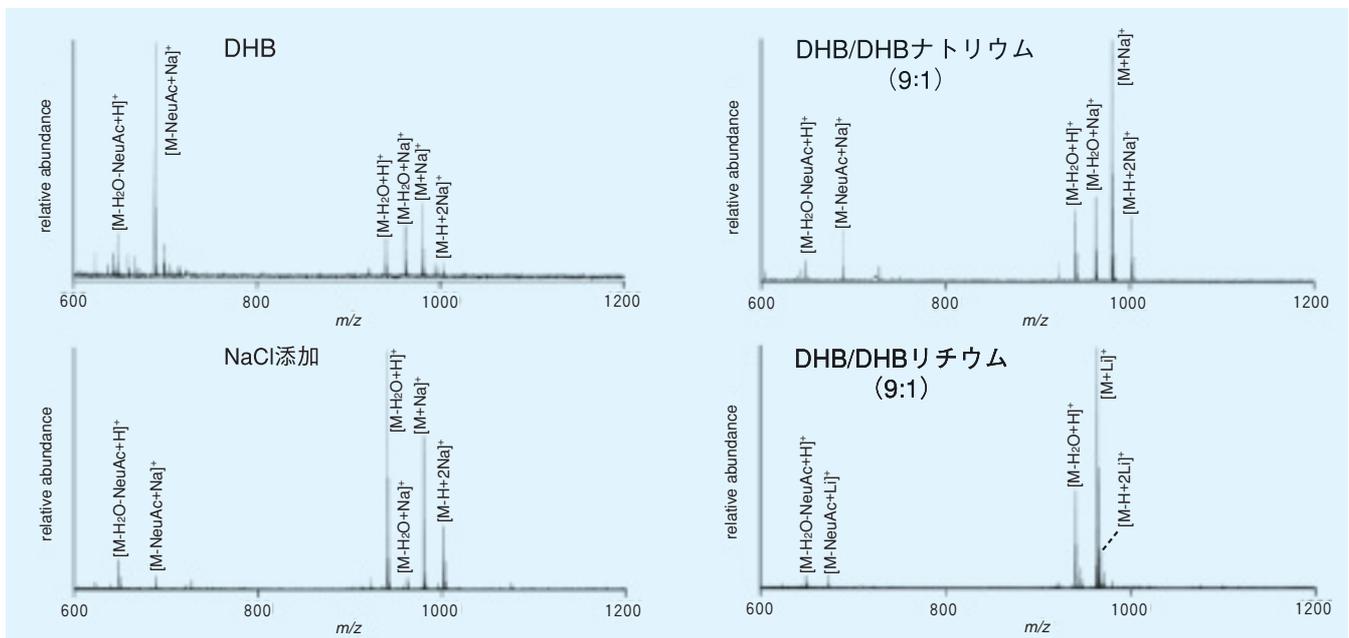


図2. ガングリオシドGM3のマススペクトル

混合し、Voyager DE Pro飛行時間型質量分析計を用いてリフレクトロン正イオンモードで測定した。

ganglioside GM3の測定結果を図2に示す。

DHBによる測定では[M-NeuAc+Na]⁺をベースピークとし、[M+Na]⁺が弱く観測された。しかし、試料にもともと含まれているNaの量に依存してこれらのイオン相対強度比が変化し、再現性はよくなかった。NaClを添加した場合はシアル酸脱離は抑制されたが、測定間でNa付加イオンの相対強度についての再現性はよくなかった。また、Naの添加量が多い場合にはイオンが検出できなくなった。これらに対し、DHB/DHBナトリウム(9:1)の混合マトリックスを用いた場合には、[M+Na]⁺の強度が改善し、高感度測定が可能になった。また、[M+Na]⁺に対する[M-NeuAc+Na]⁺の相対強度比でわかるように、シアル酸脱離も抑制された。また、マススペクトルの再現性は良好であった。DHB/DHBリチウム(9:1)の混合マトリックスを用いた場合もDHBナトリウムと同様に[M+Li]⁺がベースピークとして観測され、[M+Li]⁺に対する[M-NeuAc+Li]⁺の相対強度比は小さく、シアル酸脱離の抑制効果がみられた。また、DHBナトリウムによる測定とDHBリチウムによる測定によ

て得られた2つのマススペクトルのベースピークのm/z値を比較することで、観測されたイオンがアルカリ金属付加イオンであることも容易にわかる。

ganglioside GD1aをカチオン化マトリックスを用いて測定した結果を図3に示す。

GM3の場合と同様にDHBナトリウム、DHBリチウム共に[M+Na]⁺、[M+Li]⁺が強く観測され、シアル酸脱離イオン[M-NeuAc+Na]⁺、[M-NeuAc+Li]⁺は少ない。さらに興味深いことに、DHB

ナトリウムの場合には[M-H+2Na]⁺、[M-2H+3Na]⁺などシアル酸のカルボキシル水素(COOH)がNaに置換(COONa)したイオンが観測されたが、DHBリチウムを用いた場合にはこのような置換イオンはほとんど観測されなかった。

再現性のよいMALDI測定を可能にしたカチオン化マトリックスは、今後、実試料の測定に役立つものと期待できる。

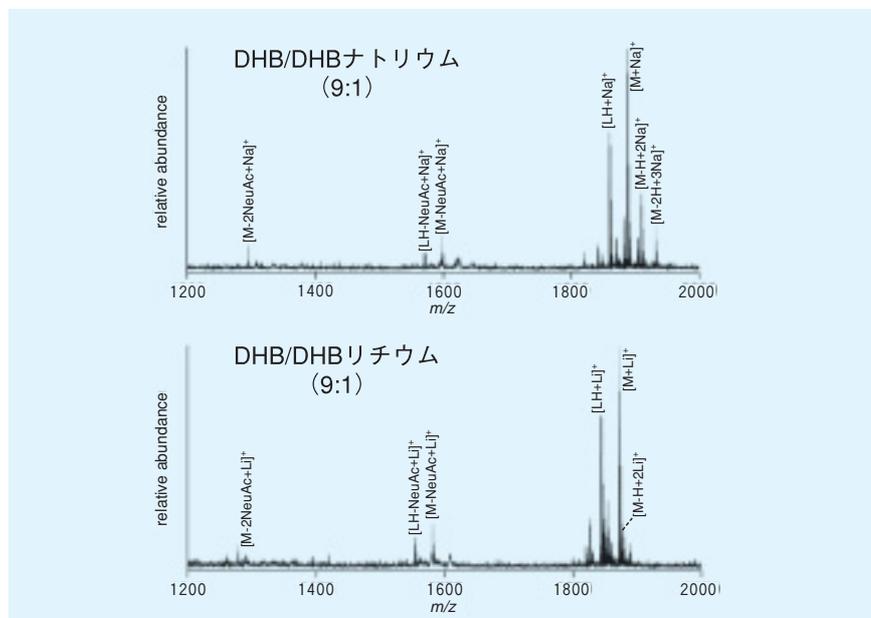


図3. ganglioside GD1aのマススペクトル
M=GD1a(C20:1), LH=GD1a(C18:1)

Products



シアル酸含有糖鎖・糖脂質のMALDI-TOFMS分析に カチオン化マトリックス

本品は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)法のマトリックスとして汎用されている2,5-Dihydroxybenzoic Acid(DHB)のナトリウム塩及びリチウム塩です。カチオン化剤としてDHBと9:1の割合で混合すると、シアル酸含有糖鎖・糖脂質サンプルにおいてマススペクトルのイオン強度の改善やシアル酸脱離の抑制などの効果が得られると報告されています。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
041-29471	2,5-Dihydroxybenzoic Acid Sodium Salt【DHB Sodium Salt】	プロテオーム研究用	50mg	15,000
048-29481	2,5-Dihydroxybenzoic Acid Lithium Salt【DHB Lithium Salt】	プロテオーム研究用	50mg	15,000

食品に残留する農薬などのHPLC分析における前処理 エビ試料中のテトラサイクリン系抗菌剤のHPLC分析

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 吉田 貴三子

近年、食品に残留する農薬、飼料添加物または動物用医薬品の成分が社会的に問題となっており、厚生労働省より試験方法が示されている（通知試験法）¹⁾。本試験法によれば、テトラサイクリン系抗菌剤（オキシテトラサイクリン：OTC、クロルテトラサイクリン：CTC、テトラサイクリン：TC、以下TC類）の分析は、抽出試料の前処理にスチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムを用いた固相抽出による前処理とHPLC-蛍光検出法が採用されている。

しかし、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムで前処理した試料液はTC類の回収は良好であるが、試料によっては不純物を十分除去できず、TC類の検出に妨害となる場合がある。

これらの不純物とTC類の分離には弱酸性カチオン交換充填剤を充填したイオン交換カラムが効果的であり²⁾、今回、新たに開発したポリマー系イオン交換カラムPresep[®] CM（弱酸性カチオン交換カラム）を、公定法の前処理に追加して用い、エビを試料

として残留TC類の測定を検討したので紹介する。

試料の前処理は公定法の“魚介類の場合”を参考として、固相抽出条件を図1のように設定した。分析カラムはWakopak[®] Navi C18-5、4.6×150mm（ODSカラム）を、前処理用スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム相当品はPresep[®]-C RPP（short）を使用した。

固相抽出カラムのTC類の回収率は混合標準液とエビ試料をホモジナイズ処理した抽出試料に標準品を添加し



Fig.1. 固相抽出条件

Table 1. 標準液回収率：Presep[®]-C RPP(Short)

	OTC	TC	CTC
1	99.6	97.2	96.2
2	102.1	100.8	98.5
3	105.2	102.3	100.0
4	100.8	99.0	97.5
\bar{X}	101.9	99.8	98.0
SD	2.4	2.2	1.6
CV(%)	2.4	2.2	1.6

* 標準液試料：
EDTA含有くえん酸Buffer 50mℓに標準品各1μgを添加

Table 2. 標準液回収率：Presep[®] CM

	OTC	TC	CTC
1	96.2	89.3	91.2
2	95.1	91.3	94.0
3	97.9	89.9	93.3
4	97.8	91.5	94.5
\bar{X}	96.7	90.5	93.2
SD	1.4	1.1	1.4
CV(%)	1.4	1.2	1.5

* 標準液試料：
CH₃OH 5mℓに標準品各1μgを添加

Table 3. エビ抽出液の添加回収率

	OTC	TC	CTC
1	96.9	86.8	86.7
2	97.1	86.9	85.7
3	94.8	89.8	88.3
4	95.7	89.9	90.7
\bar{X}	96.1	88.3	87.9
SD	1.1	1.7	2.2
CV(%)	1.2	2.0	2.5

* エビ抽出試料に標準品各1μgを添加

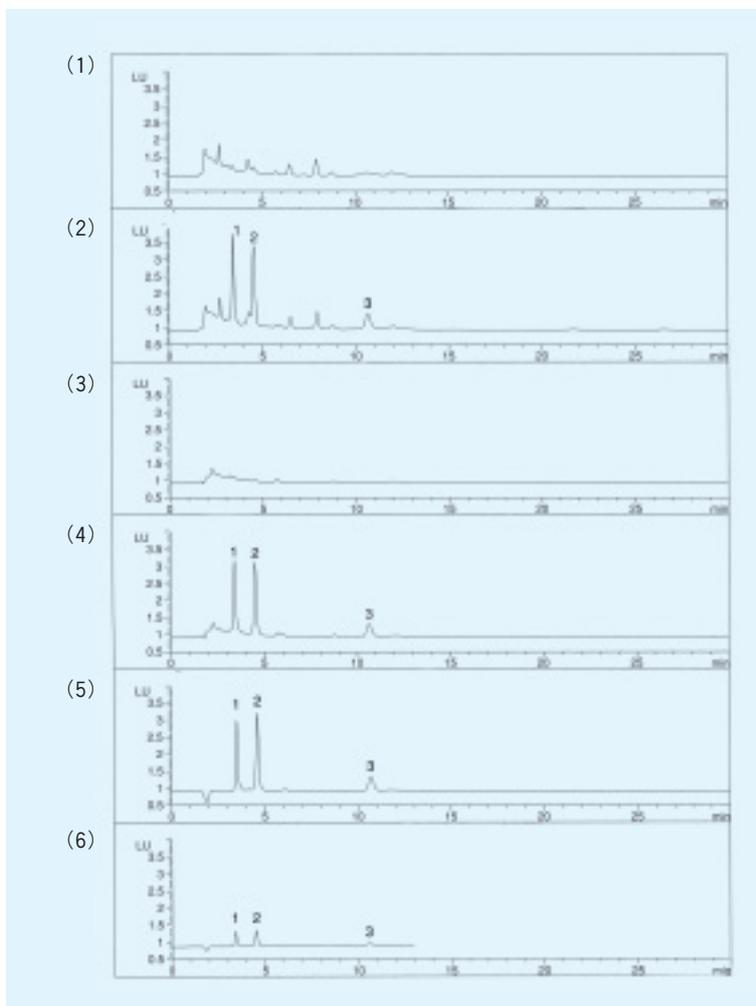


Fig.2. (1) Presep[®]-C RPP(short)で処理したエビ試料ブランク 15μℓ (2) Presep[®]-C RPP(short)で処理したエビ試料標準添加 15μℓ (3) Presep[®] CMで処理したエビ試料ブランク 30μℓ (4) Presep[®] CMで処理したエビ試料標準添加 30μℓ (5) 標準液 1μg/ml 15μℓ (6) 標準液 0.2μg/ml 15μℓ

<HPLC conditions>
 Column : Wakopak[®] Navi C18-5, 4.6×150mm
 Eluent : CH₃OH/Imidazole Buffer=25/75
 Flow rate : 1.0mℓ/min. at 40℃
 Detection : FLD Ex.380nm, Em.520nm

Sample : 1. Oxytetracycline
 2. Tetracycline
 3. Chlorotetracycline

て測定した。その結果を表1～3に示したが、いずれの場合も良好な結果であった。その時のクロマトグラムを図2(1)～(6)に示した。

エビ抽出試料をPresep[®]-C RPP (short)のみで前処理した場合(1)と、さらにPresep[®] CMで処理した場合(3)の、クロマトグラムの比較から、Presep[®] CMで処理した場合は、クリーンナップ効果が顕著であった。

以上、エビ試料中のTC類の分析

において固相抽出カラムの果たす役割は大きく、ODSと同様に逆相的な保持挙動を示すPresep[®]-C RPP (short)には、高極性不純物の除去効果はあるが、目的薬物と極性が近い不純物は除去できず、蛍光検出法でも多数の妨害ピークの溶出が認められた。それに加えてPresep[®] CMの使用はスチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムで除去できなかった妨害物の除去に大きな効果があり、前処理操作は

one step増えるものの分析精度は大幅に改善されている。

本分析例が何かの参考になれば幸いである。

〔参考資料〕

- 1) 「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)。
- 2) 和光純薬時報, 71(1), 5(2003)。

Products



固相抽出カラム

Presep[®] CMは、シリンジ型カラム(6ml)へ、カルボキシメチル基が修飾されたポリマー系イオン交換樹脂を充てんした固相抽出カラムです。Presep[®]-C RPP (Short)はカートリッジ型カラムへ、ポリマー系親水性逆相充てん剤を充てんした固相抽出カラムです。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-61801	Presep [®] CM(弱酸性カチオン)	試料前処理用	10個×5	近日発売
297-41851	Presep [®] -C RPP (Short)	試料前処理用	10個×5	39,000

品名	カラムサイズ	カラムタイプ	記号	希望納入価格(円)
Wakopak [®] Navi C18-5	4.6φ×150mm	デュボン	ケGD	45,000
		ウォータース	ケGW	

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
292-61701	Presep [®] DEA(弱塩基性アニオン)	試料前処理用	10個×5	近日発売
296-61601	Presep [®] QA(弱塩基性アニオン)	試料前処理用	10個×5	近日発売

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-61901	Presep [®] S(強酸性カチオン)	試料前処理用	10個×5	近日発売
293-41951	Presep [®] -C RPP (Long)	試料前処理用	10個×3	29,000

Information

N/400ポリビニル硫酸カリウム(PVSK)溶液の商品変更について

このたび当社では下記理由によりPVSK溶液の旧来商品を廃止し、新たな処方に変更の上、商品化することに致しました。ご使用願っておりますお客様におかれましては何卒ご事情ご理解の上、新商品を引き続きご利用下さいますようお願い申し上げます。

記

〔新処方製品〕

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
164-21655	ポリビニル硫酸カリウム滴定液(N/400)	コロイド滴定用	500ml	2,300

〔変更の経緯とその理由〕

従来ファクター値算出に使用する基準原末試薬PVSK中の硫酸塩を「比濁法」で測定し純度を算出しておりましたが、「イオンクロマト法」による不純物測定に変更致しました。

これまで当社従来製品を使用しておられたユーザーにおかれましては、今回のリニューアル製品で同様の試験を実施された場合、その試験結果が約10%程度低くなりますのでご注意くださいようお願い致します。

なお今後、最新技術による製品評価に努める所存ですので、宜しくご指導賜りますようお願い申し上げます。

以上

蟾酥(センソ)

京都薬科大学 松田 久司

センソ(蟾酥)はシナヒキガエル *Bufo bufo gargarizans* CANTOR又はヘリグロヒキガエル *B. melanostictus* SCHNEIDERの毒腺の分泌物を集めて乾燥したものであり、産地は中国(山東省、河北省、江蘇省、浙江省など)である。センソには止血や傷口の痛みを止める作用があるとされ、また、適量を服用することにより、強心作用があり、動悸、息切れに用いられてきた。

『神農本草経』の下品に「蝦蟆^{がま}」が記載されており、「邪気を治し、癥堅・血を破る。癰腫・陰瘡。これを服せば熱病を思わず」と記されている。『名医別録』では一名を「蟾蜍^{せんじよ}」とし、『本草拾遺』では蝦蟆と蟾蜍を別物としている。蝦蟆と蟾蜍が同一物か否かについては諸説があるが、一類のものとしてされており、初めは蝦蟆(蟾蜍)をそのまま陰干して薬用としたらしいが、やがてその皮腺の分泌物を蟾酥として用いるようになったとされる。西欧においてもその薬効が知られており、18世紀

頃、外皮末を *Bufones exsiccati* として処方集に収載し、水腫の治療に用いられていた。

センソの詳しい製法は不明であるが、文献によると6~8月頃、ヒキガエルを集め、竹製のすのこに入れて泥土を洗い銅製または牛角製の採取具(幅の広いピンセット状の器具)で背上の隆起した分泌腺をつかみ、分泌した乳液を集めて篩^{ふる}いでろ過して、夾雑物を除き、円形の型に流し込んで風乾するとある。

性状は黒褐色で円盤状をした塊状物であり、通常ブフォケーキともいう。中国山東省産のセンソは、径約8~10cm、厚さ1~2cmの円盤で、底面がほぼ平坦、上面はやや盛り上がっている(東酥、団蟾酥)。1個の重量は80~150gである。また小型で棋子に似たもの(杜酥、棋子酥)もある。においはなく、味は初め苦く刺激性で、後に持続性の麻痺感を生じるが、安易に粉末を直接口中に入れると、麻痺して呼吸困難になるので嚴重注意すべきである。

センソには強心性ステロイド成分(ブフォステロイド)として、resibufogenin、cinobufagin、bufalin、bufotalin、cinobufotalinなど及びこれらの3位にアミノ酸(suberylarginineなど)が結合した形での存在も知られている。

その他、インドール型アルカロイド(serotonin、bufotenine、bufotenidineなど)を含む。なお、これら強心性ステロイド成分は17位に6員環の不飽和ラクトンを有し、bufadienolide類に分類される。

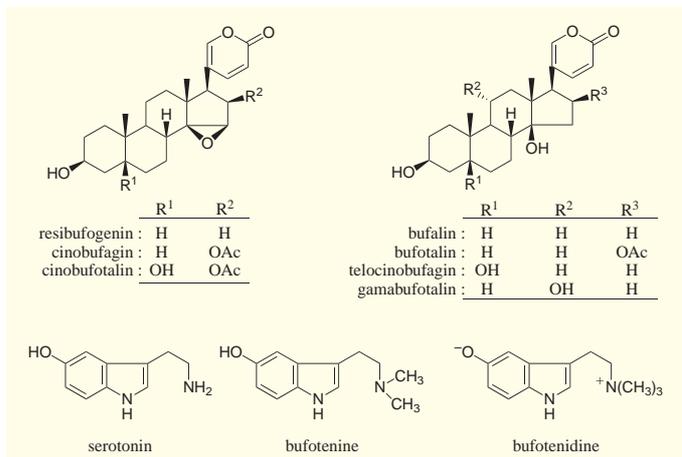
センソの薬理作用として、実験的に強心作用、局所麻酔作用及び抗炎症作用が報告されている。Bufalin、cinobufaginなどのbufadienolide類は実験動物の心収縮力を増加させ、心仕事量を増加させる。実験的虚血性心不全に対して強心作用を示す。Bufadienolide類は心筋膜Na⁺、K⁺-ATPase阻害活性があり、ジギタリスなどに含まれるcardenolide型強心配糖体と同様の作用機序で強心作用を示すものと考えられている。Bufadienolide類は吸収がすみやかで排泄も早く、cardenolide型強心配糖体に比べ蓄積性が少ないといわれている。センソには強い局所麻酔作用があり、特にbufalinに顕著な作用が認められている。また、センソの鎮痛・抗炎症作用に関して、毛細血管透過性亢進抑制作用や酢酸ライジング抑制作用などが報告されている他、解熱作用、赤血球膜安定化作用、睡眠延長作用が知られている。その他、bufadienolide類にはヒト骨髄性白血



日本の民間薬療法本『広恵濟急法』(1790年)より



センソ



病細胞に対して強力なアポトーシス誘導作用と分化誘導作用が明らかにされており、 Na^+ 、 K^+ -ATPase阻害活性との相関性が報告されている。また、センソには小腸輸送能低下、子宮運動能増強などの作用が知られており、インドール型アルカロイドbufotenineには幻覚作用があることが明らかになっている。

センソの臨床的応用としては強心利尿、鎮痛、解毒、消腫の目的で内用または外用として用いられる。六神丸などに1日分量2~5mg配合され、動悸や息切れなどに効果がある。本薬又はその毒成分を含有する製剤は劇薬であるが、「1日分量がセンソ5mg以下を含有するもの及び1錠又は1カプセル中、デスアセチルブホタリンとして、ブホステロイド0.1mg以下を含有するものを除く」ことになっている。中国薬典には日本の3倍以上の用法が記載されており、中国薬典記載の用量で使用するには注意が必要と思われる。

日本薬局方ではブホステロイドにもとづく呈色反応による確認試験や液体クロマトグラフ法によるブホステロイド含量が規定されており、bufalin、

cinobufaginおよびresibufogeninの含量の合計が5.8%以上となっている。

あとがき 『ガマの油』について

シナヒキガエルやヘリグロヒキガエルほか、世界各地の各種ヒキガエルの皮膚分泌物、特に耳下腺からの分泌物にも同様または類似の成分を含んでおり、分泌液が目に入るとしみたり、犬がなめると舌がしびれたりするという。現在、本邦のヒキガエルには市場性がないが、ヒキガエルという筑波の『ガマの油』が思い浮かべられる。伝説によると筑波山の中腹にある中禅寺の住職・光誉上人が大坂夏の陣に徳川方として従軍、戦傷者の手当てに使った陣中薬が良く効いて評判となり、この光誉上人の顔がなんとガマに似ていたところから“ガマ上人の油薬”としてもはやされ、後々『ガマの油』として有名になったものと言われている。すなわち、『ガマの油』の名前の由来は顔がガマに似ていたため薬効成分としてのガマや蟾酥(センソ)が配合されていたこととは無関係なようである。光誉上人の死後70~80年たった頃、新治村永井に生まれた兵助(ひょうすけ)が、『ガマの油』

を江戸で広めんと口上を工夫、浅草寺の境内はじめ方々で売り始め大当たりしたと伝えられている。

その時代の処方については不明であるが、「……捕えましてこのガマを四面鏡張りの箱に入れたときは、ガマはおのが姿の鏡にうつるをみて驚き、タラーリ、タラーリと油汗を流す。……トローリ、トローリと煮つめましたるが、この陣中膏ガマの油、このガマの油の効能は、ひび割れにあかぎれ、しもやけの妙薬、まだある、大の男が七転八倒する虫歯の痛みもピタリと止まる。……そればかりか刃物の切れ味を止める。……、ガマの油の効能がわかったら遠慮は御無用、どんどん買って行きやれ。」との有名な口上(地方によって少し違うらしい)から察すると、センソが配合され、止血や鎮痛などの効果があったのではと思うのである。なお、戦前にはセンソ入り『ガマの油』が販売されていたとのことであるが、現在ではセンソ入りの『ガマの油』は販売されていないとのことである。ちょっと残念に思う。

Products



生薬試験用標準品

	コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
☞P.23	030-19491	Cinobufagin *	局方生薬試験用(成分含量測定用)	20mg	25,000
	038-13711	Cinobufagin Standard	生薬試験用	20mg	18,500
☞P.23	187-01921	Resibufogenin *	局方生薬試験用(成分含量測定用、薄層クロマトグラフ用)	20mg	28,000
	184-00951	Resibufogenin Standard	生薬試験用	20mg	19,600
☞P.23	025-15241	Bufalin *	局方生薬試験用(成分含量測定用)	20mg	30,000
	025-10121	Bufalin Standard	生薬試験用	20mg	24,000
	024-10691	Bufotalin Standard	生薬試験用	20mg	36,000
	035-13721	Cinobufotalin Standard	生薬試験用	20mg	33,300

*: 第十四改正日本薬局方の品質規格試験に合格した標品です。



第60話 エンドトキシン試験法への適応

これまでも何度かエンドトキシン試験法のバリデーションについて考えてきました。今回は、実際のエンドトキシン試験に関して、実用的な方法という観点から考えてみたいと思います。

エンドトキシン試験を行う最も大きな目的は、その製品ロットが「エンドトキシン試験法」に適合するかどうかです。しかし、目的をもう少し細かく分けると、ロットの合否の他に、試験結果の信頼性、試料の性質のトレンド、試験の経済性などの要素が出てきます。試験結果の信頼性に関しては、そのロットが試験に影響を与えていないか、使用した試薬に問題はないか、使用したエンドトキシンの活性は確かななどの点で問題がないことを確かめる必要があります。試料の性質のトレンドは、主にその製品の試験に対する影響の動きを観察することにより、試験が無効になるリスクを予測し、事前に対応するためのものです。試験の経済性は、できるだけ無駄な測定を省いてコストを低くすることです。この時、試験がうまくいっていることを説明できるだけの測定は残す必要があります。これらのことを考慮しながら、どのような試験方法が実際的なのか考えてみましょう。

ゲル化法では、陰性対照(NC)、陽性対照(PC)、陽性製品対照(PPC)、製品(P)の4種類が通常測定されます。NCはLAL試薬と使用する水の異常を発見するため、PCは使用するエンドトキシンの活性が正常であることを確かめるため、PPCは製品が試験を阻害していないか、Pは製品中のエンドトキシン量が規格内であるかどうかを知るために測定を行います。ゲル化法の測定はこの4種類の試料の測定で十分に目的が達成できると考えられます。ここで日常の試験でさらにサンプル数を減らすことができな

く減らすことができるのは、その試験が不合格の場合に製品の安全性に問題が出るリスクの少ないものです。NCが不合格の場合は使用している水の汚染かLAL試薬の汚染が、PCが不合格の場合はエンドトキシンの失活かLAL試薬の失活が、PPCが不合格の場合は試料の阻害が強いのかLAL試薬の失活が、Pが不合格の場合は製品の汚染か使用している水またはLAL試薬の汚染が考えられます。この中で最もリスクの少ないサンプルはNC、次にPCだと思えます。これらのサンプルが不合格になる場合は、PPC及びPも不合格になる可能性が高く、製品の安全性に影響する可能性が低いと思われれます。従って、どうしてもサンプル数を減らさなければならぬ場合には、NCとPCを減らすのが得策といえるでしょう。もちろん、局方に対応した試験の場合は、これらを省くことはできません。

定量的な光学的方法の場合はどうでしょう。局方では試料溶液(Pに相当)、検量線の中点濃度のエンドトキシンを含む試料溶液(PPCに相当)、3濃度以上のエンドトキシン溶液(検量線に相当)、エンドトキシン試験用水(NCに相当)を測定することになっています。筆者が疑問に思うのは、日常の試験で必ず検量線の測定が必要かということです。1987年に発行されたFDAガイドライン¹⁾では、保存検量線を認めており、日常の試験ではPC及びPPCを測定することになっていました。筆者もこの考え方には賛成で、各ロットのLALに対して検量線を一度確立したら、日常試験ではPC及びPPCを測定すれば、測定条件の有効性を確保できると思うのです。PCの測定値がある範囲に入っていることが検量線の有効性を示しているという考えは、理解しやすいと思うのですがいかが

う。もし、検出しなければならないエンドトキシン濃度がPCの濃度より低い場合に、その濃度が検出できるかどうか心配というのであれば、PCの濃度を検出したいエンドトキシン濃度に設定する方法もとれると思います。筆者のお奨めとしては、毎日1回のNCとPCの測定、PとPPCはn=2で測定するというものです。もちろん、検量線はそれ以前に確立されているという前提です。これは、筆者の局方へのチャレンジではありません。最低限証明したいことを考えた場合、このような方法もあるのではないかと提案です。局方に従うのであれば、検量線の測定は避けられません。しかし、検量線3点以上の測定のタイミングについては記載がありませんので、朝一番に検量線を作成して、その後のサンプルはPとPPCのみ測定という方法は受け入れられるかもしれません。筆者の提案から、さらにどうしてももう少し節約したいというのであれば、ゲル化法の時と同じ理由でNCとPCを省くのがリスクが少ないと思います。

試験法は、調べたい事項とリスクから必要な測定サンプルが決まってきます。もちろん、必要なサンプルすべてについて測定を行えば、十分なデータが得られるでしょう。しかし、何とか楽をして、安く物事を成し遂げたいという人間の願望は、技術の発展にとって必要なものだと思うのです。このあたりも考慮して、リスクが少なく経済的な方法を提案していきたいものです。

【参考文献】

- 1) Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test as an End-product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices, Food and Drug Adm. (1987).

今回は、第61話「SLP試薬の応用(その3)」の予定です。

シバヤギ社製 レビスシリーズ新製品 SHIBAYAGI レビス® レジスチン-マウス

本キットは酵素免疫測定法を用いたサンドイッチ手法により、マウスレジスチンを高感度に測定するキットです。微量な試料から短時間でマウスのレジスチンを測定できます。

特長

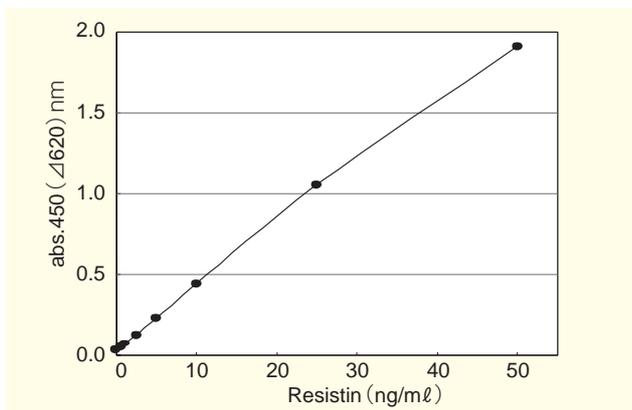
- 短時間 (反応時間 2時間50分)
- 必要な試料はわずか10 μ l
- すべての試薬が溶液タイプ
- 高い精度 (CV値 5%以下)

キット構成

- 抗体固相化プレート 96ウェル 1枚
- 標準レジスチン溶液 (500ng/ml) 200 μ l
- 緩衝液 60ml
- ビオチン結合抗レジスチン抗体 100 μ l
- ペルオキシダーゼ・アビジン結合物 100 μ l
- 発色液TMB 12ml
- 反応停止液, 1mol/l H₂SO₄ 12ml
- 濃縮洗浄液 (10 \times) 100ml



標準曲線例



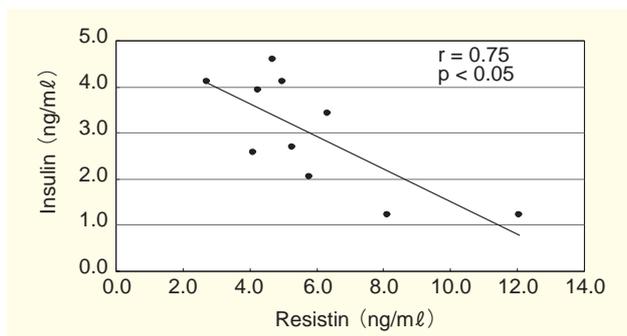
データ

ob/ob Mouse Insulin-Resistin測定

	Mouse ID	Resistin	Insulin	Resistin	Insulin
6週令	6	12.1	1.20		
	84	4.99	4.10		
	92	5.80	2.05		
	97	5.30	2.68		
	98	8.12	1.20		
14週令	42			6.36	3.42
	71			4.27	3.91
	77			2.75	4.11
	96			4.72	4.58
	97			4.13	2.57
	mean	7.26	2.25	4.44	3.72
	SD	3.0	1.2	1.3	0.77
	SE	1.3	0.54	0.58	0.34

濃度:ng/ml

※Insulinはレビス®インスリン-マウス-Tを用いて測定した。



Resistin-Insulin 相関図

KK-Mouse 測定

Sample:KK-Ay/TaJcl ♂, plasma (ヘパリン), n=2

	Mouse ID	Resistin
6週令	6	4.55
	7	8.78
	8	9.44
	9	9.06
	10	6.68
14週令	11	4.30
	12	6.59
	13	3.46
	14	4.67
	mean	7.70
	SD	2.1

濃度:ng/ml

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
632-07141	AKRRS-011	Lbis® Resistin-Mouse	96回用	62,000

関連商品

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
634-01481	AKRIN-011T	Lbis® Insulin-Mouse-T	96回用	48,000

髄液、血漿などのAβの検出に Wako βアミロイドELISAキットクロー(4種類)

アルツハイマー病は、神経細胞内に出現する神経原線維変化と細胞外に出現する老人斑などの病変が特徴です。この老人斑の成分は、主にアミノ酸残基数が40または42(43)のβアミロイドペプチド(Aβ)です。Aβ42は、Aβ40と比較して凝集しやすい性質があり、アルツハイマー病の進行過程でAβ42の比率が増加すると報告されています²⁾。

本キットは、武田薬品工業(株)で開発された非常に特異性の高い抗体を使用したサンドイッチELISA法により、脳組織はもちろんのこと、脳脊髄液や培養上清中のAβだけでなく、従来では困難であった血漿中のAβも測定できます。キットは4種類あり、ヒトのAβ40及びAβ42を特異的に認識するキットと、ヒト、ラット及びマウスなどのAβ40及びAβ42を認識するキットがあります。

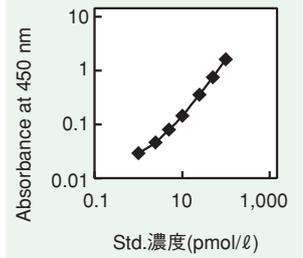
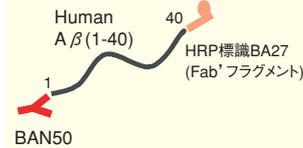


特長

- 脳脊髄液、血漿、培養上清、組織抽出液などのAβ40及びAβ42を高感度に定量できる
- 抗体は、武田薬品工業(株)で開発された、非常に特異性の高いモノクローナル抗体4種類を使用
 - ① BAN50 : AβN末端特異的
 - ② BNT77 : Aβ11-28特異的
 - ③ BA27 : Aβ40 C末端特異的
 - ④ BC05 : Aβ42 C末端特異的
- ヒトAβ特異的検出キットとヒト及びラット(マウス)Aβ特異的検出キットがある

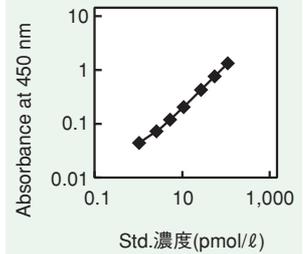
キットの種類

● ヒトAβ(1-40)



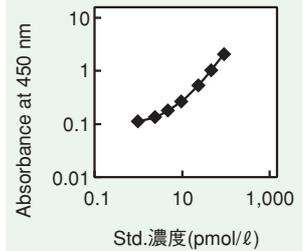
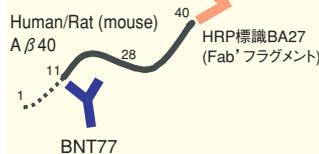
感度: 0.12 (pmol/ℓ)
標準曲線範囲: 1.0-100 (pmol/ℓ)

● ヒトAβ(1-42)



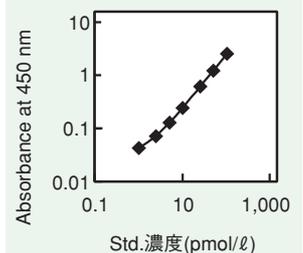
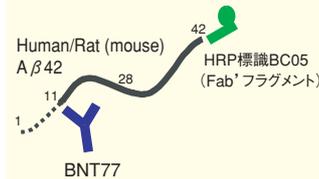
感度: 0.08 (pmol/ℓ)
標準曲線範囲: 1.0-100 (pmol/ℓ)

● ヒト/ラットAβ(40)



感度: 0.25 (pmol/ℓ)
標準曲線範囲: 1.0-100 (pmol/ℓ)

● ヒト/ラットAβ(42)



感度: 0.19 (pmol/ℓ)
標準曲線範囲: 1.0-100 (pmol/ℓ)

添加回収試験

血漿 (×4)

キットの種類	添加量 (pmol/ℓ)	測定値 (pmol/ℓ)	理論値 (pmol/ℓ)	%
ヒト Aβ (1-40)	25.00	37.97	36.69	103.5
	12.50	24.77	24.18	102.4
	6.25	17.88	17.94	99.7
ヒト Aβ (1-42)	25.00	23.46	25.93	90.5
	12.50	11.17	13.43	83.2
	6.25	6.13	7.18	85.4
ヒト/ラット Aβ (40)	25.00	40.23	38.98	103.2
	12.50	26.74	26.48	101.0
	6.25	20.08	20.23	99.3
ヒト/ラット Aβ (42)	25.00	24.27	26.19	92.7
	12.50	12.15	13.69	88.8
	6.25	6.77	7.44	91.0

髄液 (×50)

キットの種類	添加量 (pmol/ℓ)	測定値 (pmol/ℓ)	理論値 (pmol/ℓ)	%
ヒト Aβ (1-40)	25.00	44.21	43.69	101.2
	12.50	31.54	31.19	101.2
	6.25	25.45	24.81	102.5
ヒト Aβ (1-42)	25.00	26.04	28.62	91.0
	12.50	14.91	16.12	92.5
	6.25	8.71	9.75	89.3
ヒト/ラット Aβ (40)	25.00	53.01	51.23	103.5
	12.50	40.10	38.73	103.6
	6.25	33.28	32.35	102.9
ヒト/ラット Aβ (42)	25.00	31.93	31.26	102.1
	12.50	19.18	18.76	102.2
	6.25	12.24	12.39	98.8

培地 (×4) (DMEM、10%FCS)

キットの種類	添加量 (pmol/ℓ)	測定値 (pmol/ℓ)	理論値 (pmol/ℓ)	%
ヒト Aβ (1-40)	25.00	29.43	27.13	108.5
	12.50	15.74	14.63	107.6
	6.25	9.13	8.38	109.0
ヒト Aβ (1-42)	25.00	28.25	25.18	108.2
	12.50	12.97	12.68	102.3
	6.25	6.25	6.43	97.3
ヒト/ラット Aβ (40)	25.00	33.01	28.09	117.5
	12.50	18.03	15.59	115.6
	6.25	10.57	9.34	113.2
ヒト/ラット Aβ (42)	25.00	30.18	25.28	119.4
	12.50	13.93	12.78	109.0
	6.25	6.98	6.53	106.8

特異性

キットの種類	抗原		ヒト	ヒト	ヒト	ラット(マウス)	ラット(マウス)
	ヒト Aβ (1-40)	ヒト Aβ (1-42)	Aβ (1-40)	Aβ (1-42)	Aβ (1-43)	Aβ (1-40)	Aβ (1-42)
ヒト Aβ (1-40)	100	≤0.1	≤0.1	0.4	0.3		
ヒト Aβ (1-42)	≤0.1	100	6.6	≤0.1	0.3		
ヒト/ラット Aβ (40)	100	≤0.1	≤0.1	137.0	0.2		
ヒト/ラット Aβ (42)	≤0.1	100	7.2	≤0.1	132.0		

【参考文献】

- 1) Suzuki, N., Cheung, T. T., Cai, X. D., Odaka, A., Otvos, L. Jr., Eckman, C., Golde, T. E. and Younkin, S. G.: *Science*, **264**, 1336 (1994).
- 2) Asami-Odaka, A., Ishibashi, Y., Kikuchi, T., Kitada, C. and Suzuki, N.: *Biochemistry*, **34**, 10272 (1995).
- 3) Fukumoto, H., Tomita, T., Matsunaga, H., Ishibashi, Y., Saido, T.C. and Iwatsubo, T.: *Neuroreport*, **10**, 2965 (1999).
- 4) Scheuner, D., Eckman, C., Jensen, M., Song, X., Citron, M., Suzuki, N., Bird, T. D., Hardy, J., Hutton, M., Kukull, W., Larson, E., Levy-Lahad, E., Viitanen, M., Peskind, E., Poorkaj, P., Schellenberg, G., Tanzi, R., Wasco, W., Lannfelt, L., Selkoe, D. and Younkin, S.: *Nature Med.*, **2**, 864 (1996).
- 5) Kosaka, T., Imagawa, M., Seki, K., Arai, H., Sasaki, H., Tsuji, S., Asami-Odaka, A., Fukushima, T., Imai, K. and Iwatsubo, T.: *Neurology*, **48**, 741 (1997).

コードNo.	品名	内容	規格	容量	希望納入価格(円)
292-62301	Human βAmyloid(1-40) ELISA Kit Wako	ヒトAβ(1-40)を定量するキット	免疫化学	96回用	78,000
298-62401	Human βAmyloid(1-42) ELISA Kit Wako	ヒトAβ(1-42)を定量するキット	免疫化学	96回用	78,000
294-62501	Human/Rat βAmyloid(40) ELISA Kit Wako	ヒト、ラット(マウス)のAβ(1-40)及びN末端が切断や修飾を受けたAβ40を定量するキット	免疫化学	96回用	78,000
290-62601	Human/Rat βAmyloid(42) ELISA Kit Wako	ヒト、ラット(マウス)のAβ(1-42)及びN末端が切断や修飾を受けたAβ42を定量するキット	免疫化学	96回用	78,000

関連商品

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
299-56701	Amyloid β-Protein Immunohistostain Kit	C末端特異抗体により組織中のAβ40とAβ42のそれぞれを特異的に染色するキット	50回用	90,000
299-57301	Phosphorylated Tau Immunohistostain Kit	タウ蛋白質の異常蓄積病変を特異的に染色するキット	100回用	52,000
014-20281	Anti Phosphorylated α-Synuclein, Monoclonal Antibody	ser129がリン酸化されたα-シヌクレインを特異的に認識するモノクローナル抗体pSyn#64	50μℓ	30,000
019-18761	Amyloid β-Protein (1-40)	ヒトAβ(1-40)ペプチド	1mg	36,000
014-18951	Amyloid β-Protein (1-40) (Hydrochloride)	ヒトAβ(1-40)ペプチド塩酸塩	1mg	48,000
016-18771	Amyloid β-Protein (1-42)	ヒトAβ(1-42)ペプチド	0.5mg	60,000
011-18961	Amyloid β-Protein (1-42) (Hydrochloride)	ヒトAβ(1-42)ペプチド塩酸塩	1mg	52,000

PVDF膜 新発売!



スーパーセップ™ PVDFメンブラン

本品は、スーパーセップ™用のPVDFメンブランです。タンパク質との結合力が強いため、タンパク質を高感度に検出できます。また、低バックグラウンドのため、高いS/N比が得られます。

メンブランサイズは、スーパーセップ™に合わせてカットしていますので、スーパーセップ™で泳動後のウエスタンブロットに最適です。



特長

- タンパク質との高い結合力により高感度
- 低バックグラウンド
- プレカットのためカットの手間が不要

データ



Lane 1 : WIDE-VIEW™ Western Size Marker
[コードNo. 233-02211]をABC法で検出
Lane 2 : WIDE-VIEW™ Prestained Protein
Size Marker [コードNo. 230-02221]

コードNo.	品名	孔径	規格	容量	希望納入価格(円)
195-13851	SuperSep™ PVDF Membrane	0.2μm	電気泳動用	20枚	12,000

関連商品

■ スーパーセップ™ (プレキャストゲル) シリーズ

スーパーセップ™は保存安定性、再現性が良いうえに、ウエスタンブロットの転写効率に優れています。

コードNo.	品名	分画分子量範囲 (核酸のbp)	ウェル数	容量	希望納入価格(円)
195-13611	SuperSep™ HG, 5-20%	10,000~200,000	12well	10枚	15,000
192-13621	SuperSep™ HG, 5-20%	(50~750)	17well	10枚	15,000
199-13631	SuperSep™ HG, 10-20%	10,000~130,000	12well	10枚	15,000
196-13641	SuperSep™ HG, 10-20%	(50~500)	17well	10枚	15,000
192-12901	SuperSep™ 7.5%	40,000~200,000	12well	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™ 7.5%	(100~2,000)	17well	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%	20,000~130,000	12well	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™ 10%	(50~500)	17well	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%	14,000~80,000	12well	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™ 12.5%	(30~300)	17well	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™ 15%	6,000~60,000	12well	10枚	18,000
191-13071	SuperSep™ 15%	(20~300)	17well	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%	10,000~200,000	12well	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™ 5-20%	(50~750)	17well	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%	10,000~130,000	12well	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™ 10-20%	(50~500)	17well	10枚	12,000
190-13301	SuperSep™ 12.5%	14,000~80,000	2D	10枚	18,000
197-13291	SuperSep™ 5-20%	10,000~200,000	2D	10枚	18,000

■ 簡易泳動槽

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

■ タンパク質分子量マーカー

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	黄色系タンパク質サイズマーカー (分子量:15,20,30,40,50,70,100,140k)	500μl	18,000
233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	無色系タンパク質サイズマーカー (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

■ SDS-PAGE用バッファー

コードNo.	品名	内容	容量	希望納入価格(円)
196-11022	Sample Buffer Solution (2ME+) (x2)	メルカプトエタノール含有Laemmli法 サンプルバッファー(x2)	25ml	3,800
193-11032	Sample Buffer Solution (2ME-) (x2)	メルカプトエタノール不含Laemmli法 サンプルバッファー(x2)	25ml	3,400
191-13272	Sample Buffer Solution (2ME+) (x4)	メルカプトエタノール含有Laemmli法 サンプルバッファー(x4)	25ml	7,600
198-13282	Sample Buffer Solution (2ME-) (x4)	メルカプトエタノール不含Laemmli法 サンプルバッファー(x4)	25ml	6,800
184-01291	Running Buffer Solution (x10)	SDS含有Laemmli法トリスグリシン バッファー	1ℓ	5,200

10分で検出!

電子レンジを用いたQuick-CBB PLUSの応用例

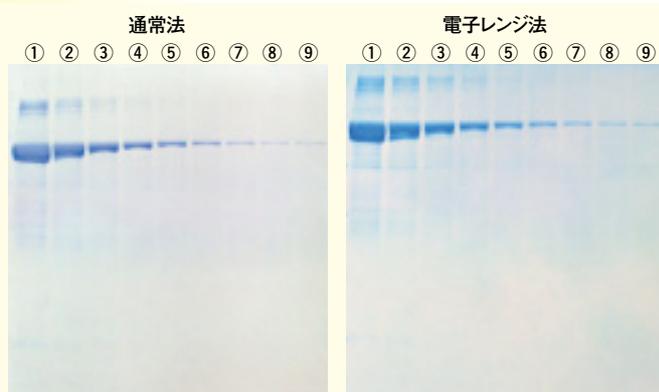
Wako

通常のCBB染色では、長時間の染色脱色操作が必要ですが、電子レンジを用いることで、短時間に染色、脱色操作を完了させることができ、約10分で染色結果を観察できます。すぐに結果が見たい時に非常に便利です。

特長

- 約10分間で結果の確認ができる。
- 通常のQuick-CBB PLUS染色よりも若干、濃く染まる。

染色実験



サンプル：BSA
 サンプル量：①Totalタンパク質量として5μg
 ②～⑨は、①の2倍希釈系列
 電気泳動：SuperSep™ 15%, 12well [コードNo. 194-13061]

操作法

- 1. 洗浄** 1～2分間
 電気泳動後のゲルを100mℓの脱イオン水で洗浄する。
 (注意)この容量は、ミニゲル1枚分です。電子レンジ用のタッパーを使用して下さい。
- 2. 電子レンジによる染色** 1分間×2回
 クイックCBBプラスにゲルを浸し、軽くサランラップで覆う。次に、電子レンジにセットし、500Wで約1分間加熱処理する。これをもう一度繰り返す。
 (備考)加熱の目安は、サランラップに水滴がつくぐらいです。
 (注意)完全にサランラップを覆った場合、針で数ヶ所穴を開けて下さい。また、かなり熱くなりますので、取り出しの際には、手袋を使用し十分注意して下さい。
- 3. 電子レンジによる脱色** 1分間×6回
 脱イオン水100mℓに染色ゲルを移し、丸めたキムワイプを一枚入れ、電子レンジにセットし約1分間加熱処理する。次に、脱イオン水を換え同様の操作を行う。6回繰り返すことで簡単にバックを抜くことができる。
 (備考)●加熱の目安は、サランラップに水滴がつくぐらいです。
 ●完全にバックを抜く場合は、脱イオン水にゲルを入れ一晩放置して下さい。ほぼ完全にバックを抜くことができます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
174-00553	Quick-CBB PLUS	電気泳動用	250mℓ	4,200
178-00551			1ℓ	11,000

New Products

有糸分裂阻害剤・細胞周期阻害剤・同調培養試薬

アンサマイトシン P-3

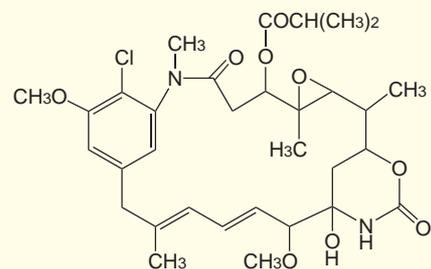
Wako

アンサマイトシンP-3は、放線菌 (*Actinosynnema pretiosum*) より産生される抗腫瘍性抗生物質で、真核細胞の有糸分裂を特異的に阻害します。その作用機序は微小管を構成する tubulin に直接結合してその重合を阻止すると共に、微小管の脱重合を促し、これによって微小管の機能を失わせることにあると言われています。

規格

融点：190～192℃
 アセトニトリル水溶液：限度内
 含量 (HPLC)：95.0%以上

安定性：結晶 (冷暗所保存) で安定。
 溶液はpH 2-9で安定、pH 10以上では不安定。



C₃₂H₄₃ClN₂O₉=635.15

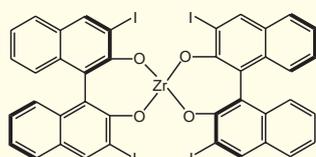
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-14831	Ansamitocin P-3	生化学用	5mg	50,000

モレキュラーシーブス固定化 キラルジルコニウム触媒



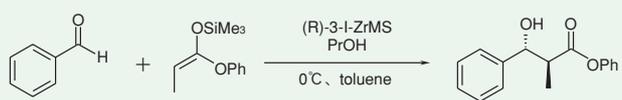
(R)-3-I-ZrMS

光学活性Lewis酸触媒は触媒の不斉合成反応において非常に有用な触媒です。しかし、高活性、高選択性を示す触媒のほとんどは水や酸素などに不安定であり、取扱いには十分な注意が必要でした。東京大学小林教授らが開発した本触媒は光学活性ジルコニウム触媒をゼオライトの一種であるモレキュラーシーブス上に分散させることにより、長期間保存可能であり、かつ水や酸素に安定で取扱いが容易になりました。



光学活性ジルコニウム触媒

反応例¹⁾



〔参考文献〕

1) Kobayashi, S., Saito, S., Ueno, M. and Yamashita, Y.: *Chem. Commun.*, 2016 (2003).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
097-05271	(R)-3-I-ZrMS	有機合成用	1g	15,000
093-05273			5g	55,000

含硫黄高機能材料の製造原料



硫化ナトリウム五水和物

硫化ナトリウムは医薬・農薬中間体、有機合成中間体、蛍光体、染料などの含硫黄高機能材料製造の原料として使用されています。本品は結晶形で取扱いが容易であり通常の硫化ナトリウム九水和物より不純物が少なく、反応に及ぼす影響を最小限に抑えることが可能です。

規格例

外観：白色～うすい黄色、結晶または塊
 亜硫酸塩及びチオ硫酸塩(SO₃として)：1.5%以下
 鉄(Fe)：7ppm以下
 含量：98.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
197-13752	Sodium Sulfide Pentahydrate	和光特級	25g	1,800
191-13755			500g	3,000

改正水道法対応 水質分析用試薬



水道法は、平成4年の改正以来10年が経過し、水道水の水質を取り巻く環境も大きく変化した事、また世界保健機構(WHO)での飲料水水質ガイドライン全面改訂などを踏まえ、平成15年5月に水質基準が改定され、平成16年4月より施行されました。

この改正に合わせて、「水質管理目標設定項目」及び「要検討項目」の測定に使用いただける試薬を、新たに追加発売しました。

水質管理目標設定項目

■塩素酸/亜塩素酸試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
037-19401	Chlorate Ion Standard Solution (ClO ₃ ⁻ :1,000mg/l in Water)	イオンクロマトグラフ用	50mℓ	4,000
034-19411	Chlorite Ion Standard Solution (ClO ₂ ⁻ :1,000mg/l in Water)	イオンクロマトグラフ用	50mℓ	4,000

■ジクロロアセトニトリル試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
046-29421	Dichloroacetonitrile Standard Solution (1mg/ml t-Butyl Methyl Ether Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	5,400

■メチルトブチルエーテル試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
023-15301	t-Butyl Methyl Ether Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	5,700

要検討項目^{*}

■アクリルアミド試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-20341	Acrylamide Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	5,300

■酢酸ビニル試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
220-01561	Vinyl Acetate, Monomer Standard Solution (1mg/ml Acetone Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	4,700

■N,N-ジメチルアニリン試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
043-29431	N,N-Dimethylaniline Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	4,900

■スチレン試験用 標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
197-13791	Styrene, Monomer Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	4,500

^{*} 測定方法参考文献 上水試験法2001(日本水道協会)。

濃縮液体タイプを新発売 大腸菌・大腸菌群検査用培地 AquaTest IIシリーズ

ELMEX

アクアテストII ATS-100

従来のアクアテストIIシリーズは、粉末培地をバックまたはチューブに分包したタイプで、検水を入れて粉末を溶解させて使用する製品でした。このタイプはサンプル管を用意する手間がかからない利点はありませんでしたが、粉末の溶解に少し時間がかかる問題もありました。今回、培地と検水の混合を容易にする目的で、既に培地を水に溶解させたタイプを開発しました。サンプル管を用意頂き、培地と検水を入れて、混ぜるだけで十分濃度が均一になります。

特長

- 検水100ml中の大腸菌と大腸菌群を24時間で検出
- 培地と検水の混和が容易
培地は既に溶解済みで、所定の濃度の10倍濃度に調製されている。培地を試験管に分注し、検水100mlを加えるだけで培養を開始できる。
- 試験管への試薬の分注が容易
溶解済みの培地は、片手で開封可能なチューブに封入されており、試験管への分注は容易に完了するので、流れ作業に向いている。
- 長期間の保管時の劣化防止
5本ずつのアルミ個別包装を採用しており、光による劣化を防止する。



組成

ペプトン	5.0g	りん酸水素二カリウム	4.0g
塩化ナトリウム	5.0g	りん酸二水素カリウム	1.0g
硝酸カリウム	1.0g	X-Gal	0.10g
ピルビン酸ナトリウム	1.0g	MUG	0.10g
ラウリル硫酸ナトリウム	0.10g	IPTG	0.10g

当組成は、2001年改訂上水試験法の糞便性指標である大腸菌群及び大腸菌の試験方法として記載された特定酵素基質培地法に基づくものです。

使用法

- ① 試験容器(試験管)を用意する。
- ② 製品(培地)をアルミパックから取り出す。
- ③ 親指で培地容器の蓋を開け、試験容器に全量を移す。
- ④ 検水100mlを加え、キャップをして24時間、36±1℃で培養する。
- ⑤ コンパレータと発色、または蛍光を比較し陽性・陰性の判定をする。
※ 判定: 青の発色が専用コンパレータと同等か濃ければ大腸菌群が陽性。蛍光がコンパレータと同等か強ければ大腸菌が陽性。
※ コンパレータ: ATB-100CまたはAT II-100Cを購入いただき、ご使用のサンプル管に移し替えて使用。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
304-16601	ATS-100	AquaTest II ATS-100	(100ml用×5本)×20	30,000

関連商品

■アクアテストIIチューブタイプ(培地入り樹脂試験管)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
307-14251	AT II-10	AquaTest II AT II-10	(10ml用×10本)×20	28,000
309-14691	AT II-100	AquaTest II AT II-100	100ml用×100本	43,000

別売り

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
309-14571	AT II-10C	AquaTest II AT-10用 コンパレータ	1本	1,500
302-14701	AT II-100C	AquaTest II AT-100用 コンパレータ	1本	3,500
305-15531	PXR-03	収納ラックAT II-10用(50本立て)	1本	8,000
306-15321	PXR-02	収納ラック(AT II-100用)	1本	8,000

■アクアテストIIバックタイプ(培地入りバック容器)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
308-13201	ATB-50	AquaTest II ATB-50	(50ml用×5パック)×20	25,000
304-14401	ATB-100	AquaTest II ATB-100	(100ml用×5パック)×20	30,000

別売り

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
307-13411	ATB-50C	AquaTest II ATB-50用 コンパレータ	1本	2,000
306-14581	ATB-100C	AquaTest II ATB-100用 コンパレータ	1本	3,000
304-13421	PXR-01	収納ラック(バック用)	1ラック	5,000

■試験管タイプ・バックタイプ共用付属機器

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
309-09441	BL-02	ミニブラックライト蛍光ランプ	1台	5,600
300-09471	BL4BLB	ミニブラックライト交換用ランプ	1本	1,700

LC/MS用溶媒 超純水追加!

LC/MS(液体クロマトグラフ/質量分析計)は生体・食品・環境分析などさまざまな分野で広く普及しています。特に近年では、装置のインターフェイス部の開発・改良が飛躍的に進んだ結果、環境汚染物質や薬物代謝物の極微量分析などにも適用されています。

当社では、ご好評いただいておりますLC/MS用溶媒に加え、今回新たに超純水を追加しました。全有機炭素(TOC)4ppb以下を保証しており、極微量の成分を分析するLC/MSに最適な試薬です。

TOC4ppb以下を保証

超純水

特長

- 全有機炭素の低減を実現
- 従来通りの保証(吸光度・蛍光試験)も実現
- 特殊処理ガラス容器・アルミキャップを採用



規格例

外観	無色透明の液体
吸光度(210~400nm)	0.01以下
蛍光試験	試験適合
全有機炭素(TOC)	4ppb以下

アセトニトリル メタノール

特長

- LC/MS分析適合性試験を実施
m/z50~2,000でのノイズレベルを保証
- アルミキャップを採用
プラスチックキャップからの微量汚染物質の混入する可能性を低減

規格例

	アセトニトリル	メタノール
含量(毛管カラムGC)	99.8%以上	99.7%以上
密度(20℃)	0.780~0.783g/ml	0.789~0.792g/ml
蛍光試験	試験適合	試験適合
LC/MS分析適合性	試験適合	試験適合

酢酸 ギ酸

特長

- LC/MS分析適合性試験の実施
バックグラウンドノイズの低減を実現

規格例

	酢酸	ギ酸
外観	無色透明の液体	無色透明の液体
含量(HPLC)	99.5%以上	99.5%以上
蛍光試験	試験適合	試験適合
LC/MS分析適合性試験	試験適合	試験適合

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
214-01301	Ultrapure Water	LC/MS用	1ℓ	1,600
210-01303			3ℓ	2,800
016-19854	Acetonitrile	LC/MS用	100ml	1,900
012-19851			1ℓ	5,600
018-19853			3ℓ	13,000
132-14524	Methanol	LC/MS用	100ml	1,050
138-14521			1ℓ	1,600
134-14523			3ℓ	3,450
018-20061	Acetic Acid	LC/MS用	50ml	5,500
067-04531	Formic Acid (abt. 99%)	LC/MS用	50ml	9,000

日本薬局方適合 生薬有効成分(標品)

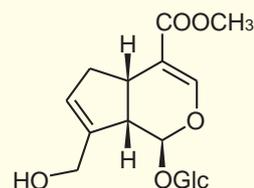


第十四改正日本薬局方に収載される生薬有効成分の試験に使用されます。本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液の規格「成分含量測定用」・「薄層クロマトグラフ用」に適合しています。

ゲニポシド

ゲニポシドはサンシシ(クチナシ果実)に含有される有効成分です。ラット消化管内ではゲニピンとなって胆汁分泌促進作用があります。

起 源 : *Gardenia jasminoides* Ellis (*Rubiaceae*)
CAS No. : 24512-63-8



C₁₇H₂₄O₁₀=388.37

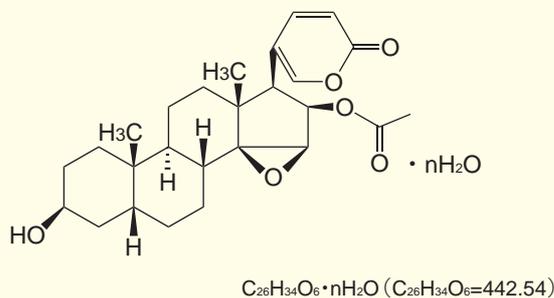
[次頁に続く]

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
071-05071	Geniposide	局方生薬試験用 (成分含量測定用 薄層クロマトグラフ用)	20mg	13,000

シノブファギン

シノブファギンはシナヒキガエル毒腺分泌物に含有される有効成分です。強心作用があり、イヌ心肺標本を用いた実験でペントバルビタールによる心不全に対して心収縮性を回復させる作用があります。

起 源： *Bufo bufo gargarizans* Cantor
CAS No. : 470-37-1

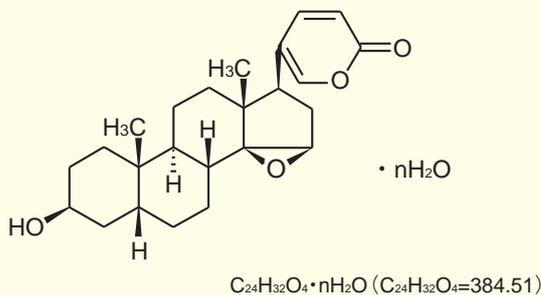


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
030-19491	Cinobufagin	局方生薬試験用 (成分含量測定用)	20mg	25,000

レジブフォゲニン

レジブフォゲニンはシナヒキガエル毒腺分泌物に含有される有効成分です。局所麻酔作用、抗炎症作用及び強心作用があります。

起 源： *Bufo bufo gargarizans* Cantor
CAS No. : 465-39-4

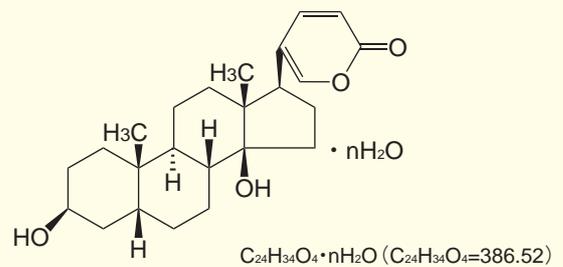


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
187-01921	Resibufogenin	局方生薬試験用 (成分含量測定用)	20mg	28,000

ブファリン

ブファリンはシナヒキガエル毒腺分泌物に含有される有効成分です。モルモットやウサギ角膜における局所麻酔作用があり、ブファリンはシノブファギンやレジブフォゲニンより強い作用があります。

起 源： *Bufo bufo gargarizans* Cantor
CAS No. : 465-21-4



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
025-15241	Bufalin	局方生薬試験用 (成分含量測定用)	20mg	30,000

サイトカイン 大入り包装取扱い開始



サイトカイン類のバルク包装(1mg)の在庫販売を開始しました。通常包装に比べ単位量当り安価となっておりますので、是非ご使用下さい。他のサイトカイン、ケモカイン、成長因子についても特注包装の取扱い可能ですのでご照会下さい。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
098-04623	Interleukin-3, Human, recombinant	生化学用	1mg	650,000
090-03963	Interleukin-4, Human, recombinant	生化学用	1mg	700,000
096-04283	Interleukin-11, Human, recombinant	生化学用	1mg	950,000
097-05173	Interleukin-13, Human, recombinant	細胞生物学用	1mg	900,000
067-04053	Flt-3 Ligand, Human, recombinant	生化学用	1mg	950,000
229-01313	Vascular Endothelial Cell Growth Factor, Human, recombinant	生化学用	1mg	950,000
188-01473	RANK Ligand soluble, Human, recombinant	生化学用	1mg	照 会
199-12813	Stem Cell Factor, Human, recombinant	細胞生物学用	1mg	照 会
201-15264	Tumor Necrosis Factor- α , Human, recombinant	生化学用	1mg	300,000
090-04683	Interleukin-1 β , Mouse, recombinant	生化学用	1mg	950,000
096-03943	Interleukin-4, Murine, recombinant	生化学用	1mg	700,000
094-05183	Interleukin-13, Mouse, recombinant	細胞生物学用	1mg	900,000
079-04673	Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor, Mouse, recombinant	生化学用	1mg	900,000
131-14393	Macrophage Colony Stimulating Factor, Mouse, recombinant	細胞生物学用	1mg	950,000
207-13463	Tumor Necrosis Factor- α , Murine, recombinant	生化学用	1mg	550,000

HTに対応!! Wako ワンステップ出芽酵母形質転換試薬

S. cerevisiae ダイレクトトランスフォーメーションキット コー

出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を形質転換させるための試薬キットです。酵母培養液に直接、目的のプラスミドと専用試薬を加えるだけで形質変換させることができます。独自の技術により、コンピテント細胞の調製が不要となり一晩培養した菌体に直接導入が可能であり、従来法では困難であった多種変異株への同時導入が簡単に行えます。

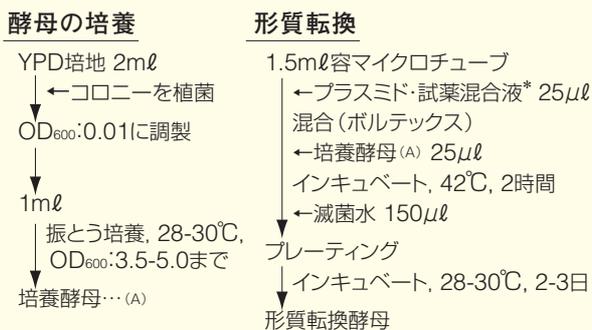
本品は、少数検体向けのチューブ法と、HT (ハイスループト) 向けの96ウェルプレート法の2通りのマニュアルを用意しています。

特長

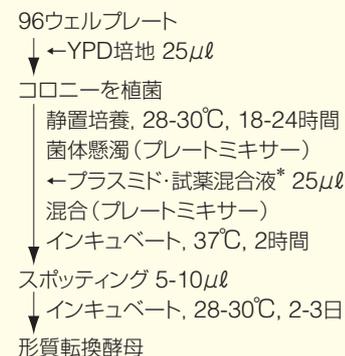
- 目的プラスミドと専用試薬を加えるだけのワンステップタイプ
- コンピテント細胞の調製が不要
- 96ウェルプレートを用いることで、多検体処理が可能
- HT向けの低粘性試薬

操作方法

チューブ法



96ウェルプレート法



*プラスミド・試薬混合液

組成 (1チューブ, 1ウェルあたり)

Sc Transformation Reagent	20μℓ
プラスミドDNA	1μg
Carrier DNA	2μℓ

滅菌水で25μℓに調製

形質転換効率

BY4737株にpRS316を導入した場合の形質転換効率

	形質転換効率 (cfu/μg)
チューブ法	≥ 5,000
96ウェルプレート法	≥ 500

キット内容

	(20回用)	(100回用)	(500回用)
● Sc Transformation Reagent	500μℓ	2.5mℓ	12.5mℓ
● Carrier DNA (5μg/μℓ)	50μℓ	250μℓ	1.25mℓ

保存条件

-20°C 保存

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
296-62701	S. cerevisiae Direct Transformation Kit Wako	遺伝子研究用	20回用	4,800
292-62703			100回用	10,000
290-62704			500回用	40,000

遺伝子機能の網羅的解析に最適! Wako 出芽酵母形質転換自動化システム

近日発売

「S. cerevisiae ダイレクトトランスフォーメーションキット コー」を使用し、既知遺伝子が破壊された出芽酵母遺伝子破壊株ライブラリー (約4,800株) の形質転換を全自動で行います。

マイクロプレート対応で、試薬やプラスミドの分注から、スポッティング、インキュベーションまでのすべての工程を高速、全自動で実施し、遺伝子機能、遺伝子ネットワークの網羅的解析を強力にサポートします。

特長

- 酵母形質転換を自動化
- マイクロプレート対応
- 高速、全自動処理
- インキュベータ搭載

アプリケーション

- 遺伝子機能の解析
- 遺伝子ネットワークの解析
- 各種生体反応経路の解析



ご興味のある方はお問合せ下さい。

小川正孝(1865~1930)

東北大学名誉教授 吉原 賢二

「味の素」の池田菊苗は今も有名な人だが、彼の帝国大学時代の同級生であった小川正孝(元東北帝国大学総長)はあまり知られていない。しかし小川は当時科学のレベルの低かった日本から英国に行って、元素の発見という最先端の困難な仕事に取り組み、ほとんど成功に近いところまで行っていた。彼が発見したニッポニウムは周期表の位置がひとつ上にずれていたために、現在の周期表に名を残すことはなかった。彼の実験の大部分は正しく、ニッポニウムは現在のレニウム(第7族、原子番号75)であった。

最近(2004年9月)、理化学研究所では113番元素の生成を確認、発表したが、日本人の発見した最初の元素となるだろうと新聞は報じた。その100年前に小川のニッポニウム研究が始った。欧米との科学格差の大きかった当時の先人はどんなに苦勞したか、ふり返ってみることの意義は決して小さくはない。

小川正孝は元治2年(1865、のち慶応元年と改まる)1月26日、当時の江戸、芝の三田、松平藩邸中屋敷で生まれた。父正弘は伊予(愛媛県)松山の松平藩の下級武士であった。やがて世は明治維新(1868)となり、廢藩置県の近代化がスタートし、一家は郷里松山に帰ることとなった。父が早く亡くなったので、正孝少年は大へん苦勞して勉学したらしい。松山中学校に入学、通学の途中、近道の陸軍練兵場を横切つて歩哨にとがめられ、口論したこともある。向うっ気の強い少年だったという。当時の松山中学校には草間時福ときしきという名校長がいて、人材も多く出た。

小川は松山中学校を首席で卒業。さらに学問を続けることを志したが、学資がないため藩主の奨学金に応募した。一度は不採用になったが、小川が必死の思いで書いた嘆願書がみとめられ、彼は幸運にも上京して大学予備門から帝国大学までのエリート・コー



写真1. 東北帝国大学理科大学長時代の小川正孝

スに乗ることができた。松山出身者の寮があって、小川はそこに入っていたが、その頃の寮生の集合写真の中に正岡子規とともにうつっているものがある(写真2)。

明治22年(1889)、小川は帝国大学(現在の東京大学)の第1回卒業生となり、卒業後英人教師ダイバース E. Divers について無機化学の研究をおこなった。

小川はその後、静岡中学校の化学の教師として赴任した。校長が月給60円の時代、彼は80円の月給をもらったという。しかし彼は化学研究の志を

断ちがたく、数年後ふたたび帝国大学に戻ってダイバースのもとで無給の副手として研究をおこなった。午前と夜間、中学校の教師をして生計を立てた。午後と週末は大学で実験にはげんだ。この頃が一番苦しかった時期であった。当時大学(明治30年に東京帝国大学に改称)にいた眞島利行(のち東北帝国大学教授、大阪帝国大学総長)は小川の勤勉ぶりに感嘆している。

明治32年(1899)、小川は第一高等学校の教授のポストを得た。ダイバースが英国に帰国する時期で、本格的にひとり立ちすることになったのである。彼はスルファミドを大量に製造する方法を見出した(明治35年)。

明治37年(1904)2月、小川は文部省在外研究員として外国留学することになった。行先は桜井錠二東京帝国大学教授の紹介によるものと思われるが、桜井のかつての留学先のロンドン大学、ウィリアムソン A.W. Williamson 教授の後任のラムゼイ W. Ramsay (1904年ノーベル化学賞)の研究室であった。これにはダイバースも相談にあずかったようだ。ラムゼイは希ガス、アルゴン Ar やネオン Ne、クリプトン Kr、キセノン Xe を発見し、ヘリウム He の地球上の存在を確認して、周期表に18族元素のグループを加えた大化学者であつ



写真2. 帝国大学時代の小川正孝——後列右端が小川、2人おいて正岡

た。当時はキュリー夫妻が放射性元素ポロニウムPoとラジウムRaを発見(1898)したあとで、新元素発見の熱(フィーバー)がさめやらず、ラムゼイはなおいくつかの新元素に取り組む姿勢であった。

小川は明治37年(1904)、日露戦争の開戦直前に出発し、ロンドンに渡った。ラムゼイは当時の新鉱物トリアナイト中の新元素の探索を小川の研究テーマとして与えた。この鉱石はセイロン島(現在スリランカ)から発見され、サイコロ状の珍しいもので、ラムゼイは新元素がいくつか含まれると考えたのである。小川はほとんど寝食も忘れるばかりに研究に打ちこんだ。その年の末頃には、苦心の結果、新元素らしい特性を示す物質の検出ができた。新しいスペクトル線も観測された。ラムゼイは大いに喜んだ。日英同盟下、極東の小国日本を後押しした英国にあって、ラムゼイも日本人を高く評価した。小川の仕事の完成を、日露戦争の激戦地の「旅順の陥落が早い、新元素発見が早い」などと言って、激励した。うまくいったら新元素の名をニッポニウムと命名することを早くからすすめたのはラムゼイであった。祖国日本の名を元素に命名することは小川にとってのこの上ない光栄であり、喜びであると小川は思ったに違いない。しかしそれだけに慎重に研究を進めなければならない。小川は2年の滞在予定をさらに延長して研究をおこなった。対象が微量であるために大へんな労力を必要としたのである。

明治39年(1906)8月に帰国した小川はさらに新元素の研究を続けた。幸運にも日本産輝水鉛鉱(モリブデナイト)からもニッポニウムのスペクトルを示すものが発見された。新元素の同定に光学スペクトルを使うのはラムゼイの研究室の得意とするテクニックであった。小川は新元素の分離に成功したとの自信を深めた。

新元素の発見を確定するには周期

表の位置を決めなければならない。周期表の空席にあてはまる原子量が得られれば、新元素をそこに入れる。小川はラムゼイの指導のもとに原子量を100と定め、モリブデンとルテニウムの間、マンガン以下の位置(原子番号43番に当たる)の空席においた。(ただし、小川自身はこの原子量に多少の不安を持っていたらしく、価数によってはもっと大きいものになる可能性を述べている。)小川は帰国後第一高等学校から東京高等師範学校に移った。

このニッポニウムの研究は明治41年(1908)、英国の化学雑誌Chemical Newsに発表された。主としてトリアナイトからのニッポニウム分離と、モリブデナイトからのニッポニウム分離の2編の‘Preliminary Note’としてであった。ラムゼイの支持のもとに発表されたために大きな反響があり、ニッポニウムは元素記号Npとして翌年のローリングF.H. Loringの周期表に採用された。

小川はニッポニウムの業績によって、明治43年(1910)、第1回桜井褒賞(のちの日本化学会賞)を受賞し、また理学博士となった。その頃の写真が残っている(写真3)。

小川はその後、明治44年(1911)、



写真3. 東京高等師範学校時代の小川正孝

新設の東北帝国大学理科大学の教授となり、その理科大学長となった。当初東京帝国大学の長岡半太郎が理科大学長になる予定だったが、長岡を東大側で離さないために、若手教授の間で最年長の小川にその職が廻って来た。小川は研究熱心のため、東北帝国大学総長の澤柳政太郎が理科大学長の用事をカバーしていたという話もある。東北帝大は創立当時活気にあふれ、研究第一主義で教授たちは夜ふけまで研究にはげみ、そのことは新聞にも書き立てられるほど



写真4. 東北帝大の実験室での小川正孝



写真5. 総長時代の小川正孝

であった。中でも小川の研究ぶりは研究第一主義のシンボルのように言われたこともある。実験室の小川を写真4に示す。

小川は若手の青山新一助手、小林松助助教授、小野平八郎大学院生らにトリアナイトを与えてニッポニウムの探索をやってもらったが微量すぎて仕事は難航し、結果が出なかった。弟子たちがやってもできなければ本人自身がやるしかないと思つたようである。ニッポニウム含量の多いモリブデナイトについてコツコツ独りで実験を行い、しばしば夜更けに及び、大学内に泊ることもあった。

小川は大正8年(1919)に東北帝国大学総長に公選された。その前は澤柳、北条、福原と三代にわたり文部官僚が天下って来たが、このとき公選による総長が誕生し、小川は公選最初の総長として昭和3年(1928)まで、3期9年つとめたのであった。この間に金属材料研究所の設置や法文学部の増設など、東北帝国大学の発展に尽くした功績は大きい。小川は総長の職務をつとめるかたわら、寸暇を惜しんで研究に従事した。夜更けまで実験室にこもる小川は実験室の鬼一あるいは研究室の聖者のようにも見えた。

小川について最近わかって来たことがある。小川は古典的な分離分析法

の達人であったが、いつかその限界を感じ、当時最先端の物理的手法を採用しようとした。とはいっても自分自身はすでに老齢なので、弟子の青山新一にその方面を担当させる意図をもったのである。その方法とは1913年にイギリスのモーズリーH.G.J. Moseleyが発展させたもので、物質から出る特性X線によって原子番号を決める画期的な方法であった。勉強家の小川がこれに目を付けたのは卓見であった(1919年)。しかし当時すぐ化学者が使えるようなX線の分光器は日本にはなく、小川はむなしく10年以上を待たなくてはならなかった。小川は一時自分のことを離れていた青山新一を呼び戻し、講師、助教授に取り立て、学位論文をまとめさせ、さらに海外留学にまで送り出した。行先は72番元素ハフニウムを発見したヘベシーG. de Hevesyのもとであった。ここにはよいX線分光器があった。

青山は大正14年(1925)3月ヨーロッパへ出発、昭和3年(1928)帰国したが、その間1年前後コペンハーゲンでX線分光法を習得した。彼は帰国後、小川の後押しによると思われるが、金属材料研究所に移籍し、X線分光器を購入した。小川から依頼され、ニッポニウム試料を測定した写真乾板が残っていた。そこには43番元素は存在せず、

75番元素が現れていた。ニッポニウムは1908年当時未発見の75番元素と分かった。木村健二郎東京帝大助教授(当時)のもとでも同じ方法で同じ結果を得た。1930年のことであった。結果は公表されることはなかった。75番元素は1925年にドイツのノダックW. Noddackらによって発見され、小川が訂正するには遅すぎた。

小川は実験室で倒れ、8日後の1930年7月11日に急性胆嚢炎のため死去した。サムライの壮烈な討死を思わせる。65歳であった。その死後、東北大片平キャンパスの一隅に小川記念園が作られ、今も小川の功績とともに研究第一主義の模範を示したことがしのばれる。小川がレニウムの実質的な発見者として再評価される気運にあることも付言する。

[参考文献]

- 1) 吉原賢二：化学史研究, 24, 295(1997); 29, 209(2002); 30, 69(2003).
- 2) 吉原賢二：現代化学, 1997年6月号, p.14; 2004年5月号, p.36.
- 3) Yoshihara, H. K.: *Radiochim. Acta*, 77, 9(1997); *Spectrochim.*, B59, 1305(2004); *Historia Scientiarum*, 9, 257(2000).
- 4) 吉原賢二著：「科学に魅せられた日本人ーニッポニウムからゲノム、光通信まで」岩波ジュニア新書372(初版2001, 2版2004).
- 5) 水関秀雄：「小川正孝の事蹟と生涯」松山大学80周年記念論文集, p.485(2004).
- 6) Kaji, M.: *Historia Scientiarum*, 12, 238(2003).
- 7) 菊池好行：化学史研究, 31, 239(2004).



写真6. 小川記念園

核酸ケージング試薬

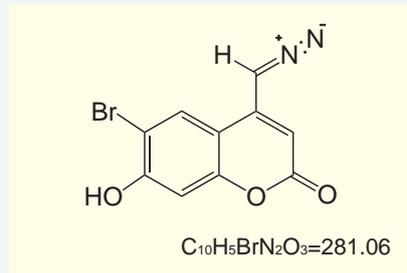


6-ブロモ-4-ジアゾメチル-7-ヒドロキシクマリン [Bhc-ジアゾ]

ケージド化合物は、セカンドメッセンジャーや神経伝達物質などをケージングすることで、細胞内あるいは組織上の局所的な活性化を光によりコントロールできる物質です。

従来のケージド化合物(2-ニトロベンジル基化合物)は光反応効率が悪く、高線量の紫外線をエネルギーとして与える必要がありました。今回、製品化したBhc-ジアゾは従来の化合物に比べ10分の1の紫外線量(365nm, 0.5~1秒)で効率良く脱ケージングすることができるため、細胞に有害な紫外線によるダメージを従来よりも低く抑えることができます。

Bhc-ジアゾは、りん酸基と結合するため、cAMP、cGMPといったセカンドメッセンジャー以外にmRNA、プラスミドDNAのような高分子化合物もケージングでき、遺伝子発現の部位と時期をも自由にコントロールすることができます。



特長

- 脱ケージングの効率が高い
- 暗所での安定性が高い
- 細胞傷害性が低い

【参考文献】

- 1) Furuta, T., Wang, S. S., Dantzker, J. L., Dore, T. M., Bybee, W. J., Callaway, E. M., Denk, W. and Tsien, R. Y.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96** (4), 1193 (1999).
- 2) Furuta, T., Takeuchi, H., Isozaki, M., Takahashi, Y., Sugimoto, M., Kanehara, M., Watanabe, T., Noguchi, K., Dore, T. M., Kurahashi, T., Iwamura, M. and Tsien, R. Y.: *ChemBiochem*, **5** (8), 1119 (2004).
- 3) 安藤秀樹、古田寿昭、岡本 仁：細胞工学, **21** (2), 217 (2002).

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
020-15291 026-15293	6-Bromo-4-diazomethyl-7-hydroxycoumarin	遺伝子研究用	20mg 1g	30,000 照 会

Information

siRNAカスタム合成サービス

1周年記念キャンペーン

(株)ニッポンイージーティーは遺伝子工学用試薬メーカーの(株)ニッポンジーンとEUROGENTEC社(本社ベルギー)が設立したジョイントベンチャーです。EUROGENTEC社は1985年に設立したバイオベンチャーで、ヨーロッパ、アメリカ、アジアに生産拠点を持つ世界規模のオリゴメーカーです。(株)ニッポンイージーティーはEUROGENTEC社が長年培ってきたオリゴヌクレオチド生産技術を用いて、高品質のオリゴヌクレオチドをご提供します。

11/17(木)まで

N-EGTなら、各種siRNAサービスが最大62%OFF

▶ お試し合成サービス

- | | |
|-----|--|
| 短納期 | 脱塩グレード.....▶ 22,400円 61%OFF
58,000円 |
| | PAGEグレード.....▶ 36,000円 47%OFF
68,000円 |

▶ 格安セット合成サービス(脱塩グレード)

- | | |
|----|--|
| 激安 | 3本セット.....▶ 55,200円 62%OFF 1本あたり 18,400円
144,000円 |
| | 5本セット.....▶ 80,000円 61%OFF 1本あたり 16,000円
204,000円 |

▶ 70%抑制保証サービス(設計&合成)

- | | |
|----|---|
| 安心 | siSNIPERによる安心設計
Gene Swatter siRNA.....▶ 102,000円 41%OFF PAGEグレードsiRNA
173,000円 2セットご提供 |
|----|---|

無償設計サービスも行っています。お問合せ下さい。

掲載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用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。

和光純薬時報 Vol.73 No.3

2005年7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

● 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

● 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