



Campylobacter jejuni CdtB遺伝子を導入した遺伝子破壊株コレクション

〔総説〕

「出芽酵母の超簡単形質転換法によるポストゲノム解析」 星田尚司、北川孝雄、赤田倫治 …… 2

〈テクニカルレポート〉

「メントール α -グルコシドの立体選択的生産と新規グルコース転移酵素の利用」 吉田圭司郎、桐村光太郎 …… 5

「Bhcによる核酸のケーシング～光で遺伝子発現を操る方法の開発～」 岡本仁、安藤秀樹、古田寿昭 …… 6

「ふっ素化シリコン修飾カラム Wakopak® Fluofix- II の分離特性」 福本昌巳 …… 8

「2次元電気泳動の解像度アップのための新しい前処理試薬
—植物由来試料の粘性除去や動物由来試料のテーリングに有効—」 荒木朋洋 ……10

〈Talking of LAL〉

「第61話 SLP試薬の応用(その3)」 土谷正和 ……14

〈生薬のはなし〉

「チンピ(陳皮)とヘスペリジン」 合田幸広 ……12

〔化学大家〕

「ヤコブス・ヘンリクス・ファント・ホフ」 島尾永康 ……24

〔製品紹介〕

有機合成

クラウンエーテル担持イオン性液体 …… 15

環境・分析

ワコーパック® フルオフィックス …… 9

ヘスペリジン異性体 …… 13

プレセップ® イオン交換カラム …… 15

日本薬局方適合 生薬有効成分 …… 16

HPLC用 動物用医薬品標準品 …… 16

水質分析用試薬 …… 18

ダイオキシン類分析用「ジメチルスルホキシド」… 18

GC用前処理試薬「10%塩化水素1-ブタノール溶液」… 19

生化学

L-メンチル- α -D-グルコピラノシド n水和物 … 5

株シバヤギ レビス® インスリンSタイプ …… 20

タンパク質サイズマーカー …… 21

細胞生物

サイトカイン 新製品 …… 22

Cayman社 ロイコトリエン …… 23

β アミロイドELISAキット コー …… 28

遺伝子

S.cerevisiae ダイレクトトランスフォーメーション

キット コー …… 4

核酸ケーシング試薬「Bhc-ジアゾ」 …… 7

リバースクリプト® IV …… 22

機器

ACEA社 リアルタイム細胞計測システム … 19

〔お知らせ〕

プロテオーム解析前処理試薬 サンプルのご案内・第21回 Wakoワークショップ開催のご案内 …… 11

出芽酵母の超簡単形質転換法によるポストゲノム解析

山口大学工学部応用化学工学科 星田 尚司、北川 孝雄、赤田 倫治

タンパク質間の結合解析に酵母のツーハイブリッド法を用いたり、目的タンパク質の発現に酵母を宿主に用いる酵母家以外の研究者が増えている。真核生物で最も扱いやすいモデル生物である酵母は、実験材料としての幅を広げ、分子生物学時代のファージや大腸菌の役目を、ゲノム時代には酵母が担う勢いである。酵母の価値はその遺伝子操作法にある。今回、超簡単な遺伝子導入法を開発したので紹介する。単に混ぜるだけという方法はコンペitentセル(形質転換能力を与えた細胞)の概念をなくし、ポストゲノム解析のキーツールとなる。

真核生物で最初にゲノム解析が完了した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、ポストゲノムにおいてもその先頭を走っている。その代表的な例の1つは、EUROFANプロジェクトによって行われた全遺伝子破壊株コレクションの作成である。ここではゲノム解析により明らかにされた約6,000のORFを薬剤耐性マーカーで置換し、ノックアウトしている。これにより6,000の遺伝子のうち1,105遺伝子が破壊すると生存できなくなる必須遺伝子であることも明らかになった。このコレクションは1,144株の必須遺伝子破壊ヘテロ2倍体セット(遺伝子2つのうち一方を破壊してある)、約4,800株の非必須遺伝子破壊1倍体セット(a及びα接合型)、約4,800株の非必須遺伝子破壊株ホモ2倍体セット、及び約6,000株のヘテロ2倍体セットなどや、それらのプールからなる。日本ではインビトロジェンやフナコシから入手可能である。遺伝子破壊された部位にはそれぞれ異なるタグ配列が挿入しており、タグ配列を利用した株の同定も可能で、ハイスループットゲノムワイド解析が盛んに行われ、ゲノムレベルでの生物像が明らかになってきている^{1,2)}。しかし、これだけでは酵母の遺伝子しか解析できない。そこで求められるのがこれら数千のコレクションへの遺伝子導入法である。

酵母では様々な形質転換法が報告されており、最も一般的に使われているのはItoら³⁾によって報告された酢酸リチウム法であろう。しかしこの方法は遠心操作による細胞の濃縮や細胞増殖期の制限があり、不可能ではないが数千の株には不向きである。私たちがこれまでに用いてきたOne-step法はChenら⁴⁾によって報告された方法を改良したものであるが、その名の通り「ワンステップ」で形質転換できることから数千株へのハイスループットワークにも適用可能であると考えられた。実際この方法を適用したセミハイスループット形質転換法も開発したが、これでも4,800株の形質転換に2か月程度の時間がかかり、その操作も、今思えば、煩雑であった。

「*S. cerevisiae*ダイレクトトランスフォーメーションキット コー」は酵母培養液に

形質転換液を混ぜるだけの操作で酵母への遺伝子導入を可能にする画期的な試薬である。日常的な酵母へのプラスミド導入には簡単な上に十分な効率を持ち、さらに、その能力を最大限に発揮できるのがハイスループット形質転換である。酵母遺伝子破壊株コレクションに遺伝子を導入した報告はいくつかあるが、いずれも破壊株プールにランダムに導入したのからスクリーニングするか⁵⁾、マイクロプレートでの遠心濃縮を含む通常の形質転換法であった^{6,7)}。今回の方法がいかに簡単で、さらにその簡単さがいかにパワフルであるか紹介する。

一株ずつの形質転換では、試験管などの培養容器に1mlのYPD培地(酵母の最も一般的な富栄養培地)を入れ酵母を植菌し、28℃で24時間培養する。あらかじめ目的のプラスミドと

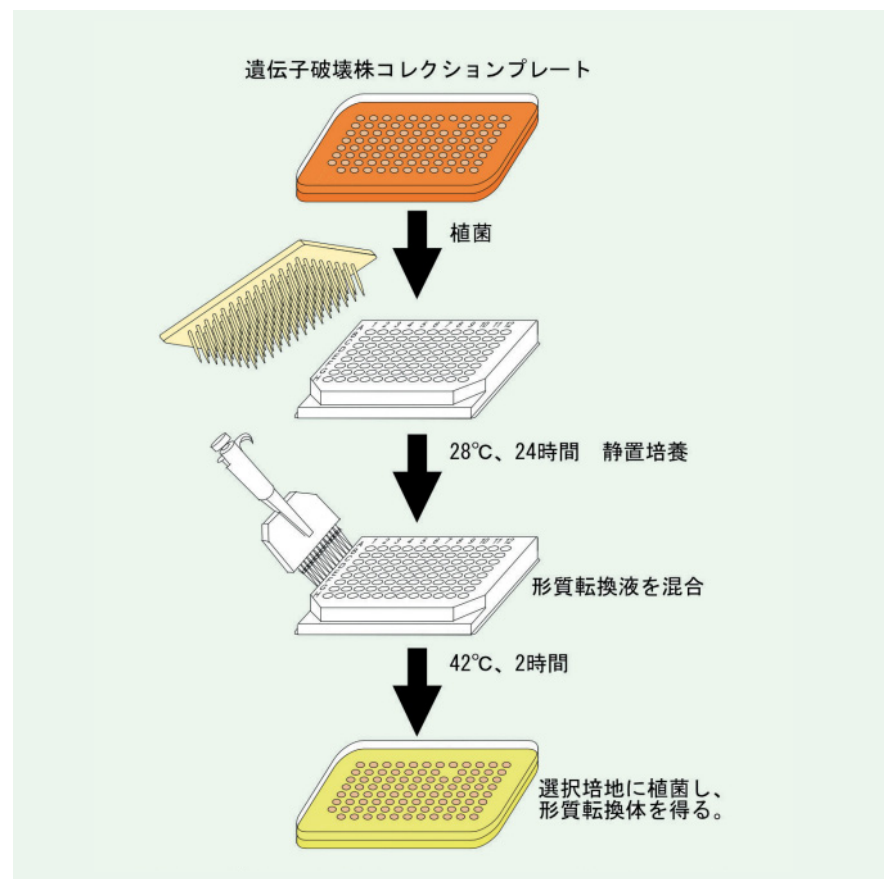


図1. ダイレクトトランスフォーメーションキットによるハイスループット形質転換法

混合した試薬混合液25 μ lを入れた1.5mlチューブに、この培養液25 μ lを分注し混合する。42 $^{\circ}$ Cで2時間ヒートショックを与え、適切な選択培地に混合液を広げた後、28 $^{\circ}$ Cで培養すれば形質転換体を得ることができる。この方法で5,000cfu/ μ gDNA以上の形質転換効率を得られた。酢酸リチウム法などと比べると形質転換効率は低く、遺伝子ライブラリースクリーニングには不向きである。また、染色体上への遺伝子の組み込みができないという欠点はある。しかし、単に形質転換体を得るための実験であれば必要以上のコロニーを得ることができるし、一桁程度であれば、細胞を濃縮することも容易に形質転換効率を上げることも可能であった。

この方法を酵母遺伝子破壊株コレクションに適用したハイスループット形質転換の例を示す。ハイスループット形質転換法では、酵母遺伝子破壊

株コレクションが保存されている96ウェルフォーマットのままで操作を行った(図1)。この例では、LEU2を形質転換マーカーとするpRS315⁸⁾に、ガラクトースプロモーター下に食中毒原因菌*Campylobacter jejuni*のエフェクター遺伝子*CdtB*を挿入したプラスミドを導入した。この時のプラスミドは大腸菌からアルカリ-SDS法で調整したものを用いており、大腸菌由来のRNAが大量に含まれているので、キャリアーRNA/DNAは加えていない。角型シャーレに作成したYPD寒天培地上に保存しておいた破壊株を、96個のピンがついたレプリケーターで取り、25 μ lのYPD液体培地を分注した96ウェルプレートに植菌した。プラスチック製のふたをして28 $^{\circ}$ Cで24時間静置培養した。形質転換用酵母の培養は25 μ lという少量の培地で行うため、プレート周辺のウェルが乾燥しやすい。乾燥したウェルに滅菌水を入れて形質転換を試み

たが、形質転換体はほとんど得られなかったことから、乾燥を防ぐ必要がある。培養時にプレートを完全にシールした嫌気的な培養を行っても好気条件下と同等に形質転換体を得ることができたことから、プレートを密閉して培養するのも一つの方法である。24時間培養した培養液はプレートミキサーで穏やかに攪拌し、細胞を十分に懸濁した後、形質転換液を分注し再び穏やかに攪拌した。今回は12チャンネルピペットを用いて形質転換液の分注を行ったが、一度に大量のプレートに対して形質転換を行うときには96ウェル対応の分注装置を使うと細かな神経を使う必要がなくなる。42 $^{\circ}$ Cに2時間おいた後、10 μ lずつを選択培地にスポットし、数日後のすべてのプレートの様子を図2に示した。この実験ではまず、53枚(0349と0381を1枚のプレートにまとめた)のプレートを29枚と24枚の2回に分けて形質転換操作を行い、

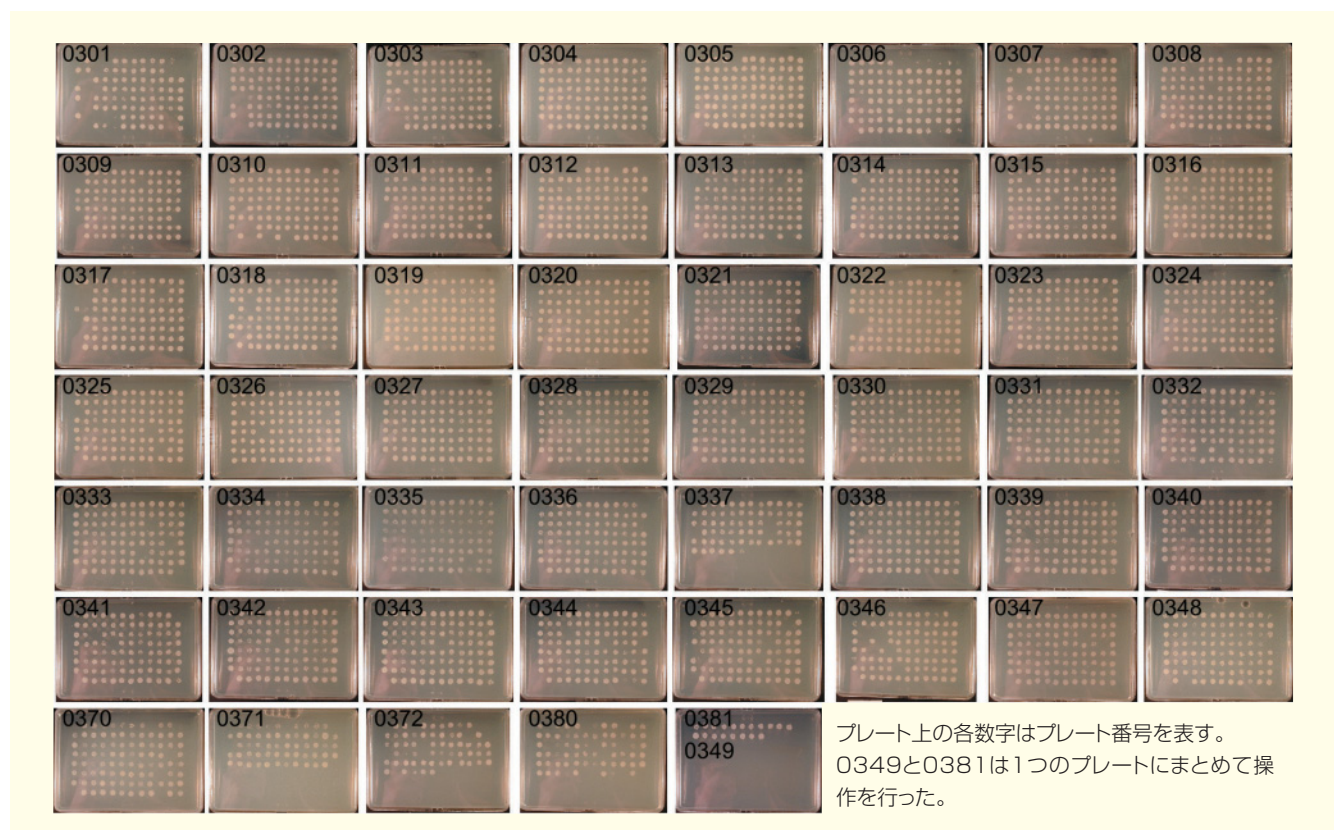


図2. *Campylobacter jejuni* *CdtB*遺伝子を導入した遺伝子破壊株コレクション

4,708株の破壊株から4,602株の形質転換体を得た。残りの106株を96ウェルプレートに集めもう一度形質転換し、98株の形質転換体を得た。残り8株のうち6株はチューブ法で形質転換体を得た。最後まで残った2株はロイシン要求性株であるために、形質転換体を得ることができなかったことがわかった。この結果は*S. cerevisiae*ダイレクトトランスフォーメーションキットWakoで簡単に4,700株に遺伝子を導入できることを示しているとともに、新しい結果「遺伝子導入できない非必須遺伝子破壊株はない。」ということを示している。DNAの取り込みは生物にとって必須の現象であると考え始めている。

この方法を用いることで、酵母で発現させたときに何らかの表現型を示す遺伝子であればどんな遺伝子でも解析可能である。例えば、ほ乳類アポトーシス誘導遺伝子*Bax*を酵母で過剰発

現させると致死性を示すことから、ハイスループット形質転換法により酵母内で*Bax*と遺伝学的に相互作用のある遺伝子の探索が可能になる。タンパク質の発現、局在の解析や、さらには疾患の原因となる遺伝子を用いることができれば、創薬のターゲットとなる遺伝子の探索も可能になる。既に私たちはこの方法を用いて酵母遺伝子、ヒト遺伝子、病原菌エフェクター遺伝子、有用酵素遺伝子など12以上の遺伝子の導入を完了し、ゲノムレベルの解析を行っている。それぞれ大変興味深い結果が得られており、この方法の簡便さはもちろんであるが、そこからもたらされる結果にも驚かされている。

【参考資料】

- 1) Giaever, G. *et al.*: "Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome.", *Nature*, 418, 387-391 (2002).
- 2) Scherens, B. and Goffeau, A.: "The use of genome-wide yeast mutant collections.", *Genome Biol.*, 5, 229.1-229.8 (2004).

- 3) Ito, H. *et al.*: "Transformation of intact yeast cells treated with alkali cations.", *J. Bacteriol.*, 153, 163-168 (1983).
- 4) Chen, D. *et al.*: "One-step transformation of yeast in stationary phase.", *Curr. Genet.*, 21, 83-84 (1992).
- 5) Willingham, S. *et al.*: "Yeast genes that enhance the toxicity of a mutant huntingtin fragment or α -synuclein.", *Science*, 302, 1769-1772 (2003).
- 6) Kushner, D. B. *et al.*: "Systematic, genome-wide identification of host genes affecting replication of a positive-strand RNA virus.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 15764-15769 (2003).
- 7) Murthi, A. and Hopper, A. K.: "Genome-wide screen for inner nuclear membrane protein targeting in *Saccharomyces cerevisiae*: Roles for N-acetylation and an integral membrane protein.", *Genetics*, 170, 1553-1560 (2005).
- 8) Sikorski, R. S. and Hieter, P.: "A system of shuttle vectors and yeast host strains designated for efficient manipulation of DNA in *Saccharomyces cerevisiae*.", *Genetics*, 122, 19-27 (1989).

Products

ゲノムワイドなスクリーニングに対応!!

S. cerevisiae ダイレクトトランスフォーメーションキット Wako

本キットは、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を簡単に形質転換させることができる試薬キットです。わずらわしい菌体の遠心・洗浄操作をすることなく、酵母培養液に直接プラスミドDNAと専用試薬を加えるだけのワンステップトランスフォーメーション試薬です。特に96ウェルマイクロプレートを用いた多検体への導入に威力を発揮します。



特長

- 菌体の遠心・洗浄が不要
- 目的プラスミドDNAと専用試薬を加えるだけのワンステップタイプ
- 96ウェルマイクロプレートで導入できるため、多検体処理が可能
- チューブ法でも導入が可能
- 低粘性試薬の実現で、ハイスループット化が可能

形質転換効率

- BY4743株にpRS316を導入した場合の形質転換効率
- 96ウェルマイクロプレート法…………… 500cfu/ μ g以上
 - チューブ法…………… 5,000cfu/ μ g以上

キット内容

	(20回用)	(100回用)	(500回用)
● <i>Sc</i> Transformation Reagent	500 μ l	2.5ml	12.5ml
● Carrier DNA (5 μ g/ μ l)	50 μ l	250 μ l	1.25ml

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-62701	<i>S. cerevisiae</i> 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



メントール α -グルコシドの立体選択的生産と新規グルコース転移酵素の利用

株式会社ロッテ 中央研究所 吉田 圭司郎
早稲田大学理工学部応用化学科 桐村 光太郎

L-メントール(以下、単にメントールと略)はハッカの香り成分で、清涼剤や香料として広く使用されている。メントールの配糖体はメントールのような揮発性がなく、水溶性の誘導体として様々な用途が期待されるが、 α -グルコシド体(L-menthyl- α -D-glucopyranoside、以下 α -MenGと略)に比べて β -グルコシド体(β -MenG)が強い苦味を示すため、食品等への応用を考えた場合には α -MenGのみを立体選択的に合成する必要がある。有機合成では経済的で効率的な方法がなかったので、我々は、酵素合成による α -MenGの立体選択的な合成を検討した。

まず、市販の各種糖質加水分解酵素や糖転移酵素を利用した反応から検討を開始した。僅かに α -MenGを生成する酵素も見出されたが¹⁾、収量、収率ともに満足できるものではなかった。そこで、新規な酵素を求めて広範なスクリーニングを行い、土壌より単離した *Xanthomonas campestris* WU-9701株に優れた酵素の存在を確認した²⁾。*X. campestris* は食品の増粘剤キサンタンガムの生産菌であり、酵素源としても適当と考えられた。そこで、精製した酵素あるいはWU-9701株の凍結乾燥菌体をそのまま触媒として使用することで反応系を検討し、メントールを酵素と糖供与体であるマルトースを含む水溶液に添加して振とうするだけで、最適条件下では反応系のほぼ全量のメントールを α -MenGに変換することに成功した²⁾。しかも、当該反応は有機溶媒を使用することなく、飽和濃度を越えて生成物が水溶液中に析出する結晶蓄積型酵素反応(Fig.1)

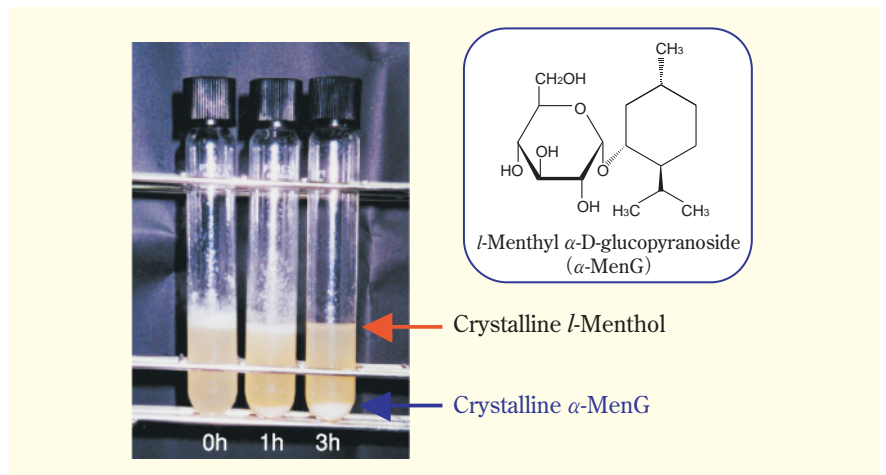


Fig. 1. Enzymatic and simple reaction system for α -MenG production

で、濾過のみで容易に α -MenGが回収できる。得られた α -MenGをエタノールに溶解した後、水を加えていくと白色の結晶が沈殿する。X線結晶構造解析の結果、白色結晶は α -MenGの一水和物であった。 α -MenGにはメントールのような強い香りはないが、口中に含んでしばらくすると弱いながら清涼感が感じられる。 α -MenGは加熱や α -グルコシダーゼの作用による分解でメントールを生成しメントール特有の香りが感じられる。

我々はメントール以外にも本酵素を利用して、(+)-カテキン α -グルコシドをモル変換効率57%³⁾、ヒドロキノン α -グルコシド(α -アルブチン、美白作用を示す化粧品素材)をモル変換効率93%⁴⁾、オイゲノール α -グルコシドをモル変換効率55%⁵⁾で合成することに成功した。このように、本酵素は簡便かつ高収率な配糖体合成のツールとして期待できる。興味深い性質として、本酵素は単糖や二糖などの糖にはグルコースを転移しないため、反応にお

いていわゆるオリゴ糖を副生せず²⁻⁵⁾、生成する配糖体もモノグルコシドのみである。従って、単一の配糖体だけを効率的に合成できるという点でも優れている。既に我々は本酵素を精製して諸性質を検討し、さらに当該酵素をコードする遺伝子の大腸菌における高発現にも成功している⁶⁾。

【参考文献】

- 1) Nakagawa, H., Yoshiyama, M., Shimura, S., Kirimura, K. and Usami, S.; *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60** (11), 1914-1915 (1996); **62** (7), 1332-1336 (1998).
- 2) Nakagawa, H., Dobashi, Y., Sato, T., Yoshida, K., Tsugane, T., Shimura, S., Kirimura, K., Kino, K. and Usami, S.; *J. Biosci. Bioeng.*, **89** (2), 138-144 (2000).
- 3) Sato, T., Nakagawa, H., Kurosu, J., Yoshida, K., Tsugane, T., Shimura, S., Kirimura, K., Kino, K. and Usami, S.; *J. Biosci. Bioeng.*, **90** (6), 625-630 (2000).
- 4) Kurosu, J., Sato, T., Yoshida, K., Tsugane, T., Shimura, S., Kirimura, K., Kino, K. and Usami, S.; *J. Biosci. Bioeng.*, **93** (3), 328-330 (2002).
- 5) Sato, T., Takeuchi, H., Takahashi, K., Kurosu, J., Yoshida, K., Tsugane, T., Shimura, S., Kino, K. and Kirimura, K.; *J. Biosci. Bioeng.*, **96** (2), 199-202 (2003).
- 6) 桐村光太郎, 他6名: 特願2002-054853号.

Products

新規メントール配糖体

Wako

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
138-15001	L-Menthyl- α -D-glucopyranoside <i>n</i> -Hydrate	生化学用	100mg	12,000
136-15002			500mg	40,000

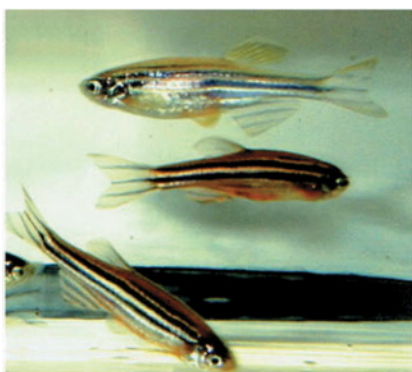
Bhcによる核酸のケーシング～光で遺伝子発現を操る方法の開発～

理化学研究所 脳科学総合研究センター 発生遺伝子制御研究チーム 岡本 仁、安藤 秀樹
東邦大学理学部 生物分子科学科 古田 寿昭

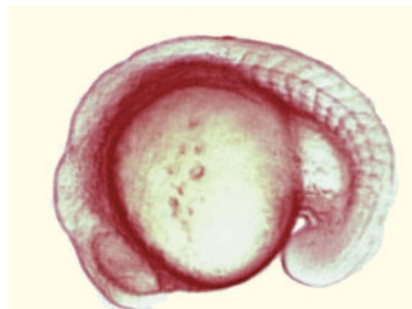
ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) は、脊椎動物の発生メカニズムを研究するための優れたモデル実験動物として注目されている。胚は、透明で比較的少数の細胞からできていること、世代時間も3か月と短いことなどの理由から、ゼブラフィッシュは細胞生物学や分子生物学における様々な研究に使われてきている¹⁾ (図A, B)。我々はゼブラフィッシュ胚のこのような特性を生かして、胚の中で、任意の遺伝子を、思い通りのパターンで発現調節できることを目指して、mRNAケーシング法と呼ばれる方法を開発した。この方法は、ゼブラフィッシュ胚以外にも、様々な形で応用できると期待される。

光を使った遺伝子発現誘導の試み

我々以外にも、幾つかのグループが核酸を修飾し、光線照射によって遺伝子発現を調節する試みを行っている。Haseltonらのグループは、ATPをケーシングするのに用いられる



図A. ゼブラフィッシュの成魚



図B. 受精後20時間目のゼブラフィッシュ胚

1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl) diazoethaneをDNAのリン酸基と反応させてDMNPE [1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl) ethyl] 基を結合することによって、DNAの転写活性を25%程度に抑制できることを示した²⁾。さらに365nmの波長の紫外線を総エネルギーで0.25~0.5ジュール/cm²に相当する分だけ照射することによって、転写活性が8~9割回復することを示している。

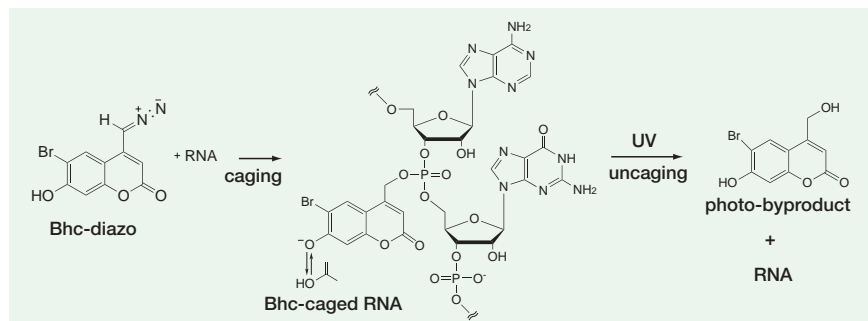
Bhcによる核酸のケーシング

筆者のうちの古田寿昭とカリフォルニア大学サンディエゴ校のRoger Y. Tsienらによって合成されたbrominated 6-hydroxycoumarin-4-yl methanol (Bhc) は、カルボキシル基、カルバミル基、リン酸基にエステル結合し、極めて低いエネルギーの長波長紫外線の照射で、乖離することを報告していた。我々は、これら一連のBhc誘導體の中から、リン酸基とエステル結合する可能性がある6-Bromo-4-diazomethyl-7-hydroxycoumarin (Bhc-diazo) に着目し (図C)、BhcをmRNAのリン酸基に結合させることによって、可逆的にmRNAの活性を押さえる試みを行っ

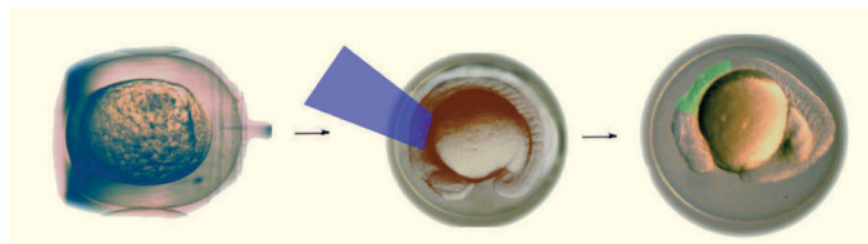
た^{3, 4, 5)} (図D)。

当初、*in vitro*で合成したmRNAをBhc-diazoと反応させても、ある時は活性が完全に押さえられたのに、次に同じことをやると今度はうまく行かないという再現性の悪さがあった。またBhc-diazoは、反応溶媒の水溶液に解けにくく、すぐに沈澱してしまった。この問題は、Bhc-diazoとmRNAとの反応を水を含まないdimethyl sulfoxide (DMSO)の溶液中で行うことによって、解決された。DMSOは、水よりも遥かにBhc-diazoを溶かしやすいというだけではない。Bhc-diazoは解離していない(イオン化していない)リン酸基としか反応しないため、水溶液での反応ではちょっとしたpHの変化でも反応効率が大きく変化する可能性があるが、DMSO中ではmRNAのリン酸基が殆どイオン化しないので、DMSOで反応を行うことは反応効率を飛躍的に増大すると考えられている。

この方法を使って試験管内で合成されたmRNAにBhc分子を複数個結合させた後、1細胞期のゼブラフィッシュの受精卵に注入すると、このRNAからの蛋白合成はほぼ完全に抑制された。ところが発生途上の胚に、この分子



図C. Bhc-diazoのRNAへの結合と、紫外線照射による解離機構

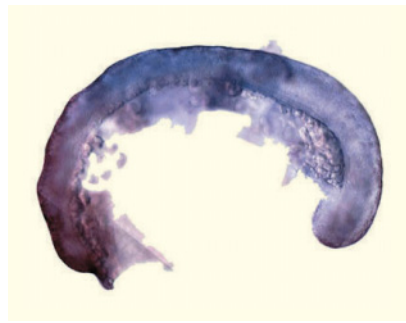


図D. 1細胞期のゼブラフィッシュ胚へのケーシングmRNAの注入(左)。胚の一部への紫外線の照射(中)。紫外線被照射部での蛋白合成(右)

の遊離に適した365nmの紫外光を照射すると、照射を受けた部分のみで mRNA の活性が回復し、mRNA が翻訳されてタンパク質が合成されることを確認した。即ちBhcでケージしたクラゲ由来の蛍光蛋白 (Green Fluorescent Protein, GFP) の mRNA を1細胞期のゼブラフィッシュ胚に注入し、受精後12時間目に頭部だけに紫外線のスポット光を照射すると、GFP の mRNA は胚全体に分布しているのに (図E)、GFP は頭部のみで翻訳されて (図E)、頭部のみが蛍光を発するようになった (図F)。

何も修飾を受けない mRNA は、1細胞期のゼブラフィッシュ胚に注入すると、受精後15時間くらいまでにほとんど分解されてしまう。Bhcによってケージされた mRNA は、分解されにくく、受精後24時間でもかなり残っていることが、注入された mRNA に対する *in situ* hybridization で確認された。受精後24時間までには、例えばすべての1次運動神経細胞が軸索伸展を開始している。このようにBhcの結合によって注入された mRNA の寿命が伸びることは、この技術を使って研究可能な発生の時期が広がるという点で大きな意義を持っている。

我々は、この技術を“ケージド mRNA 技術”と呼んでいる。Bhcと較べて、先に述べたDMNPEとリン酸との結合を切るには、1~2桁高いエネルギーが必要である。発生が早いゼブラフィッシュ胚を使って遺伝子の働きを調べるには、結合によってより完全に遺伝子

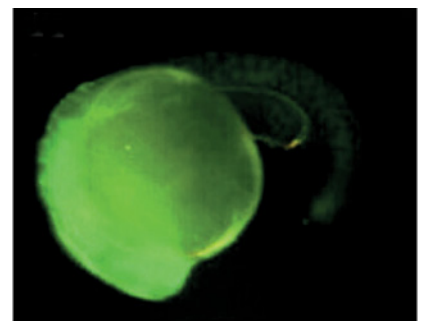


図E. 1細胞期にケージド GFP mRNA を注入され、受精後12時間目に頭部に紫外線照射を受けた胚での GFP mRNA の分布。GFP mRNA は全身に分布している (紫)。一方 GFP 蛋白 (茶) は、頭部に局限して発現している

の活性を抑制でき、なおかつずっと低い線量の紫外線照射で活性化できる Bhc の方が、遥かに実用性に優れている。

ケージド mRNA 技術の現状と将来

最近、アンチセンス モルフォリノ・オリゴヌクレオチド (antisense morpholino oligonucleotide) を使った遺伝子の機能抑制技術が、ゼブラフィッシュで盛んに使われるようになってきた⁶⁾。我々は、Bhcによる核酸の修飾技術を発表してから、モルフォリノ・オリゴヌクレオチドをBhcで修飾し、遺伝子抑制の時期や場所を制御できないかという質問を何度も受けている。モルフォリノ・オリゴヌクレオチドではリン酸基がブロックされているので、残念ながらBhcを結合することができない。一方 siRNA のような短いヌクレオチドを



図F. 1細胞期にケージド GFP mRNA を注入され、受精後12時間目に頭部に紫外線照射を受けた胚での、頭部特異的な GFP の発現

Bhcでケージングする場合、Bhcの結合による不溶化が問題となってくる。今後、このような課題の克服のための研究が必要である。

〔参考文献〕

- 1) 岡本仁、成瀬清、堀寛、武田洋幸: 小型魚類を用いた研究の可能性, 「小型魚類研究の新展開 蛋白質核酸酵素 12月号増刊」pp2677-2689, (共立出版) (2000).
- 2) Monroe, W.T., McQuain, M.M., Chang, M.S., Alexander, J. S. and Haselton, F. R.: "Targeting expression with light using caged DNA.", *J. Biol. Chem.*, **274**, 20895-20900 (1999).
- 3) Ando, H., Furuta, T., Tsieng, R. Y. and Okamoto, H.: "Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos.", *Nature Genetics*, **28**, 317-325 (2001).
- 4) Ando, H. and Okamoto, H.: "Practical procedures for ectopic induction of gene expression in zebrafish embryos using Bhc-diazo-caged mRNA.", *Methods Cell Sci.*, **25** (1-2), 25-31 (2003).
- 5) Ando, H., Furuta, T. and Okamoto, H.: "Photo-mediated gene activation by using caged mRNA in zebrafish embryos.", *Methods Cell Biol.*, **77**, 159-71 (2004).
- 6) Nasevicius, A. and Ekker, S.C.: "Effective targeted gene 'knockdown' in zebrafish.", *Nat. Genet.*, **26**, 216-20 (2000).

Products

Wako

新規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]

特長 ● ケージ解除の効率が高い ● 暗所での安定性が高い ● 細胞傷害性が低い

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 [Bhc-diazo]	遺伝子研究用	20mg 1g	30,000 照会

ふっ素化シリコン修飾カラムWakopak® Fluofix-IIの分離特性

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 福本 昌巳

現在、一般的なHPLC分析には、主として全多孔性球状シリカゲルを基材とした化学修飾型充填剤が使用され、その中でもODS充填剤(C18、オクタデシルシリカゲル)が最も普及しています。しかし、ODS充填剤も万能とはいかず、それを補完する形で炭素鎖長の異なる充填剤や、イオン交換基、親水性基などの異なる修飾基をもつ充填剤、あるいはこれらを合わせもつ充填剤が開発されています。当社では、これらの充填剤に加え、分岐状のフルオロアルキル基を高純度全多孔性球状シリカゲルに化学修飾したふっ素化シリコン修飾カラムをWakopak® Fluofix 120E(エンドキャッピング型)、Wakopak® Fluofix 120N(非エンドキャッピング型)を上市して多様な分析に対応しています。

今回、このFluofixシリーズの機能向上と汎用性の拡大を目的に開発したWakopak® Fluofix-IIは、シリカゲルへのふっ素化処理方法を改善して合成した充填剤を高密度にパッキングしたHPLC用カラムであり、従来のFluofix充填剤が持つ大きな撥水性、撥油性による化学的安定性はもちろんのこと、剛直なフルオロカーボン鎖による位置異性体などの構造認識能、ハロゲン間の親和性由来するハロゲン、特に含ふっ素化合物の分離能力などの特性を引き継ぎ、それらを従来以上に発揮できる充填剤です。

その特長をまとめれば、1) 選択性の向上、2) ハロゲン化合物の認識能の向上、3) 塩基性化合物への適応範囲の拡大、4) 汎用性の拡大となり、以下、分析例を示しながら説明します。

第1には、特異な選択性です。図1、図2に芳香族炭化水素の分離比較を示しましたが、ODS充填剤にくらべ、Wakopak® Fluofix-IIは、C4充填剤とほぼ同等の保持力しかありません。しかし、従来のアルキル型充填剤

では認識できなかった含ふっ素化合物の認識など、異なった分離特性を示します。また、従来品より保持能を増大させていますので、選択性と汎用性が高くなっています。

第2には、ハロゲン特に含ふっ素化合物の認識性です。Wakopak® Fluofix-IIは、ハロゲンを含む化合物、特に含ふっ素化合物の認識性が高く、分子内のふっ素の増加により保持時間が大きくなります。図3にフルオロベンゼン類のクロマトグラムを示しましたが、

ODS充填剤で分離できないふっ素原子1、2個の差を認識し、*o*-、*m*-、*p*-位の位置異性体までも分離することが可能です。

第3には、塩基性化合物への適応範囲の拡大です。図4のフルオロアニリン類の分析において、Wakopak® Fluofix-IIは、従来品及びODS充填剤に認められる*p*-フルオロアニリンのブロードでテーリングしたピーク形状の改善を達成しています。

第4には、汎用性の拡大があります。

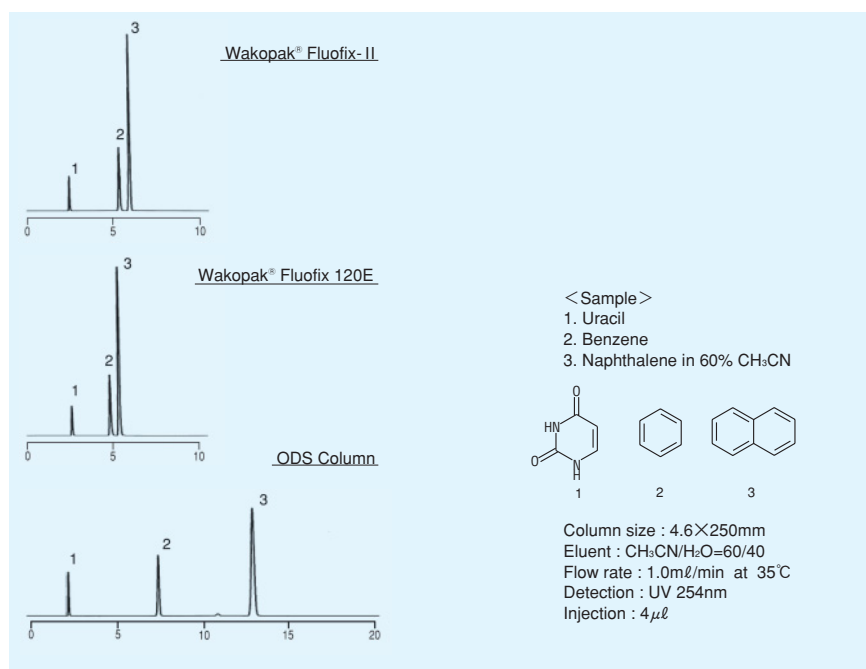


図1. 芳香族化合物の分析1

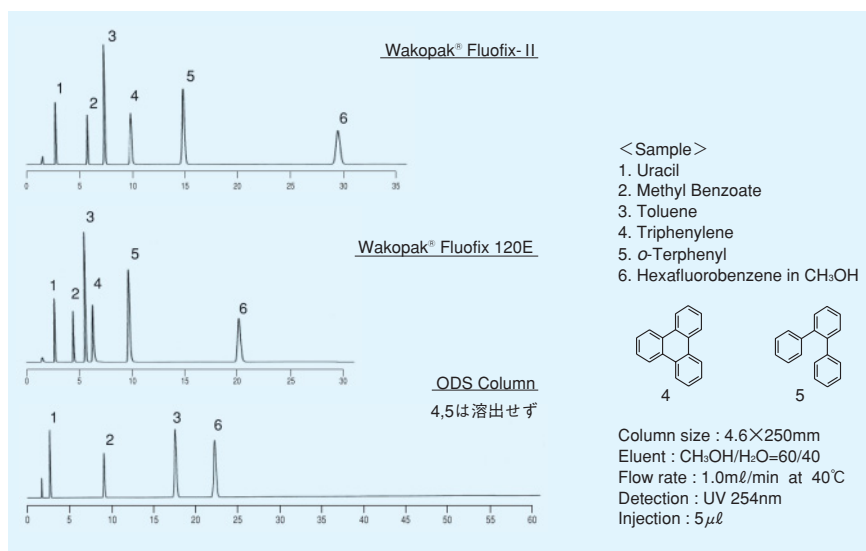


図2. 芳香族化合物の分析2

図5にO-メチル化カテキン類の分析例を示しましたが、Wakopak® Fluofix-IIは、ODS充てん剤と同様な分離を示し、特別な分析だけでなく、一般的な分析にも適応可能なことを示唆しています。

以上のように、Wakopak® Fluofix-IIは、ハロゲン特にフッ素原子の認識性と大きな構造認識性により、含フッ素化合物、構造異性体などODS充てん剤では分離が困難な場合はもちろんのこと、汎用性の向上に伴い広い範囲の分析に使用が期待できます。

[参考文献]

- 1) 和光純薬時報, 69(4), 7(2001).
- 2) 和田忠昭:和光純薬時報, 70(4), 16(2002).

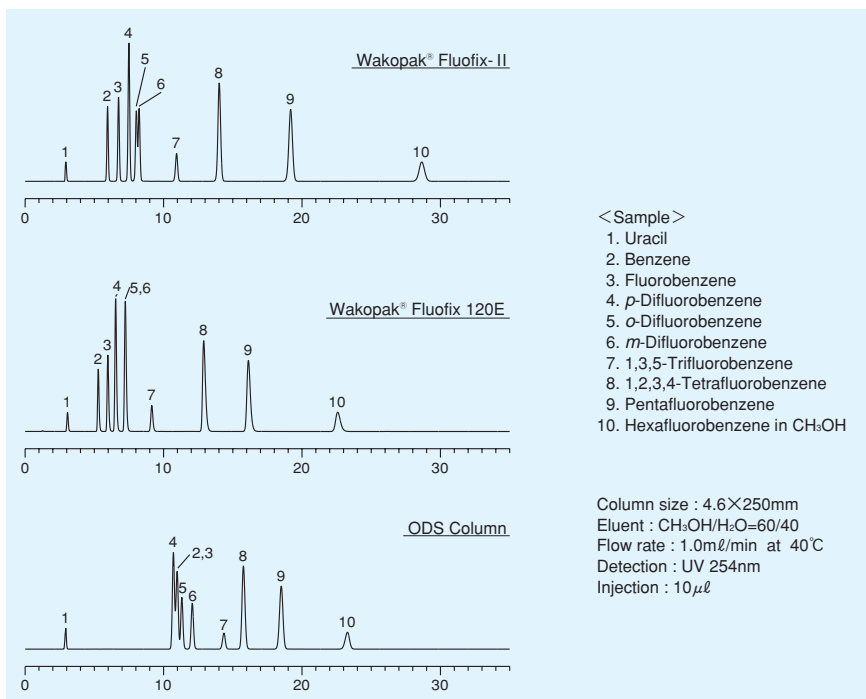


図3. フルオロベンゼン類の分析

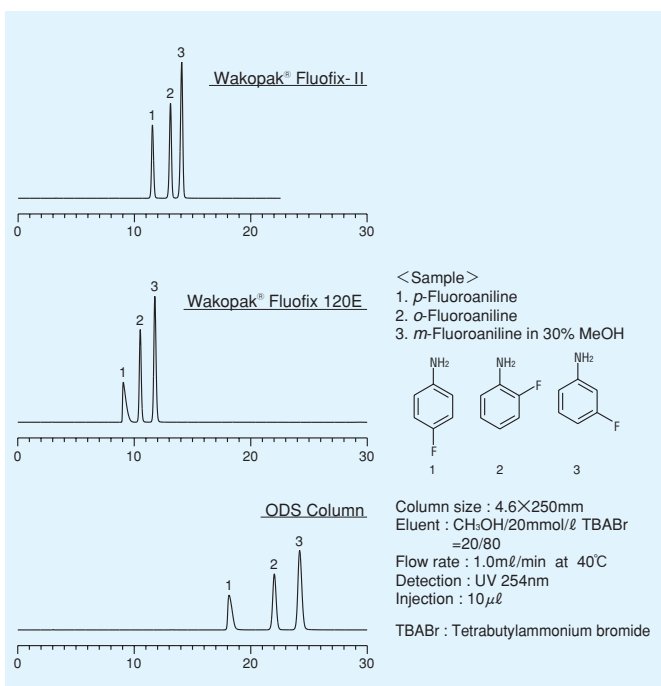


図4. フルオロアニリン類の分析

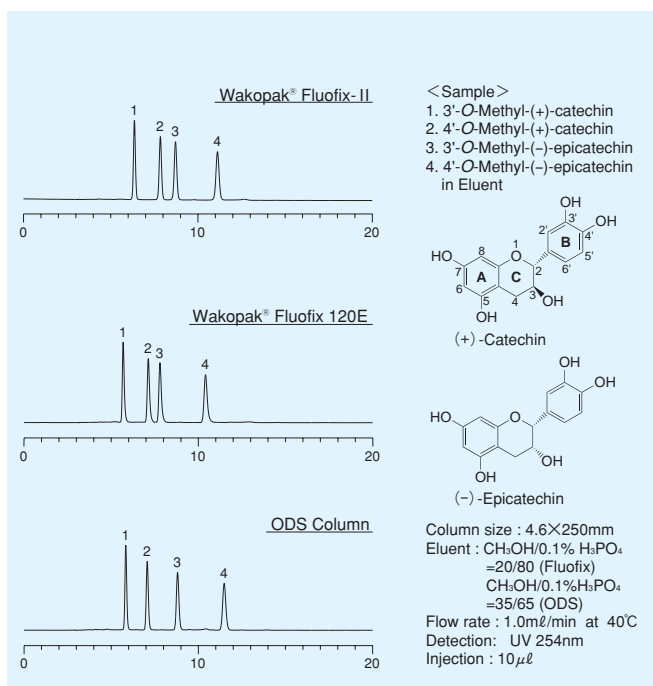


図5. O-メチル化カテキン類の分析



品名	カラムサイズ	容量	希望納入価格(円)
Wakopak® Fluofix-II	4.6φ×150mm	1本	近日発売
	4.6φ×250mm	1本	近日発売

2次元電気泳動の解像度アップのための新しい前処理試薬 —植物由来試料の粘性除去や動物由来試料のテーリングに有効—

九州東海大学農学部 バイオサイエンス学科 荒木 朋洋

ゲノム解析により、様々な遺伝子群が解明されたことに伴い、遺伝子産物であるタンパク質解析、すなわちプロテオーム解析の必要性が高まっている。プロテオーム解析の一般的な手法は2次元電気泳動を主軸とし、質量分析等の技術を用いてタンパク質を同定しようとするものである。しかし、生体抽出液中にはタンパク質以外の成分が含まれ、2次元電気泳動の妨害となっている。この問題点を解決するため、タンパク質の特異的な沈殿作用を応用した前処理法やそのキット化製品が利用されている。しかし、これらのキット等を使用した場合にも、植物抽出液のように、多量の粘性多糖を含有する場合にはその粘性のため、電気泳動法が適用できないか、また

は結果がきわめて不鮮明なものになり、プロテオーム解析の大きな問題点となっている。

本法は従来の選択的タンパク質沈殿法とは異なり、妨害となっている粘性多糖の選択的除去を基本技術とする手法で、生体抽出液を4級アンモニウムイオン系界面活性剤で処理することにより、迅速かつ効果的に粘性多糖を除去し、電気泳動等に適した試料の調製を行うものである。また、生体抽出試料中に含まれる核酸類についても本法で選択的に除去できるので、植物抽出液のみならず、微生物あるいは動物由来の抽出液の前処理方法として有効である。

図1は本法を使用して特に粘性が高い植物であるヤマイモ抽出液を処

理した後、2次元電気泳動でタンパク質を分離したものの(a)と未処理の(b)の泳動像の比較である。本法を適用した結果、多くのタンパク質が2次元電気泳動で検出可能になったことがわかる。また、図2は動物由来のニワトリ心筋抽出液を処理したもので、処理(a)と未処理(b)を比較するとスポットのまとまりが改善されており、2D-DIGEなどにも有効であることがわかる。また、本法で添加した界面活性剤は、2次元電気泳動に全く影響を及ぼさないで、処理液をそのまま2次元電気泳動に供することができ、極めて操作が簡便である。ただし、一部の試料については酸性タンパク質が沈殿してしまうこともあるので、網羅的解析の場合には注意を要する。

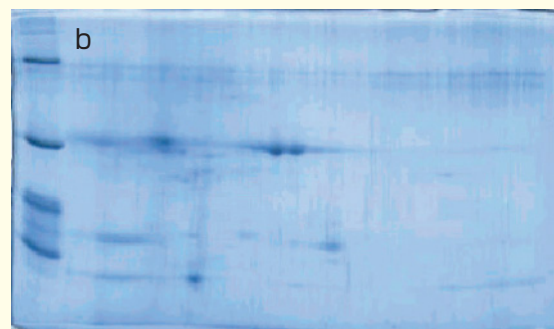
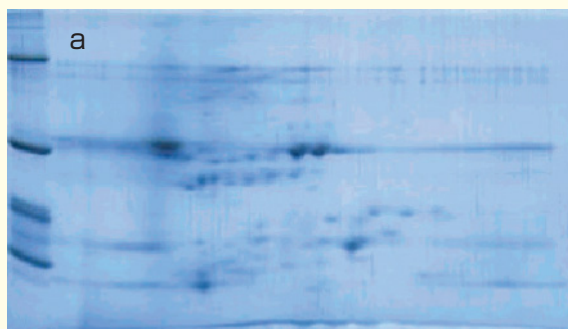


図1. ヤマイモ抽出液の前処理結果

a : 処理、b : 未処理

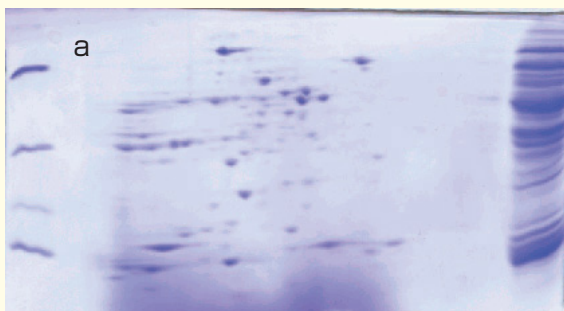


図2. ニワトリ心筋抽出液の前処理結果

a : 処理、b : 未処理

Information

試作品のご案内



プロテオーム解析前処理試薬

プロテオーム解析において問題点となっている植物抽出液の粘性多糖や生体抽出試料中に含まれる核酸類の選択的除去にご利用いただけます。

ご希望の方には、試作品をご用意しておりますのでご照会下さい。

〔照会先〕 当社代理店／営業担当者もしくは下記

和光純薬工業株式会社 試薬開発部

サンプル係

FAX : 06-6201-5965

E-mail : yasuihiro.takeda@wako-chem.co.jp

使用方法

試料に本品を添加 (1/20量)

↓
攪拌後、4℃で放置

↓
遠心分離
(12,000 rpm、4℃、5分間)

↓
上清を回収

Information

第21回 Wakoワークショップ

神経疾患： その病態解明と治療法の開発

日 時：平成17年11月30日 (水)

10:00~17:40

場 所：全電通ホール

東京都千代田区神田駿河台3-6

TEL 03-3219-2211

総合企画：慶應義塾大学

医学部・生理学教室

教授 岡野 栄之 先生

総合座長：国立精神・神経センター

総長 金澤 一郎 先生

参加費：無料

定員：420名 (先着順)

参加申込先：

和光純薬工業株式会社 試薬営業本部

学術部 ワークショップ係

〒103-0023

東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号

FAX:03-3270-8582 TEL:03-3270-8243

E-mail:seminar@wako-chem.co.jp

講演プログラム

開始時間	演 題	所 属	講 演 者
10:00~	開催挨拶	和光純薬	
10:05~	はじめに	慶大・医	岡野 栄之
10:10~	運動ニューロン疾患の分子標的治療	名大院医	祖父江 元
10:50~	ポリグルタミン病発症の分子機構	京大院生命科学	垣塚 彰
11:30~	プリオンの感染病態	東北大院医	北本 哲之
12:10~	(昼 食)		
13:05~	双極性障害(躁うつ病)の神経生物学	理研脳センター	加藤 忠史
13:45~	アルツハイマー病の病態	東大院医	井原 康夫
14:25~	アルツハイマー病を標的とした創薬研究	京大院薬	杉本 八郎
15:05~	(コーヒーブレイク)		
15:20~	パーキンソン病とユビキチンシステム	精神・神経セ	和田 圭司
16:00~	ES細胞を用いた再生医療	京大院医	高橋 淳
16:40~	内在性神経幹細胞と成体脳ニューロン新生	慶大・医	岡野 栄之
17:20~	おわりに	慶大・医	岡野 栄之
17:30~	閉会挨拶	和光純薬	

チンピ(陳皮)とヘスペリジン

国立医薬品食品衛生研究所 合田 幸広

チンピ(陳皮)は、日本薬局方で「ウンシュウミカン *Citrus unshiu* Markovich 又は *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) の成熟した果皮である。」と規定されている。また、チンピは、漢方処方に最も使われる生薬のひとつであり、一般用漢方処方210処方中44処方に利用されている。このチンピ中の有効成分として知られた物質が、flavanone配糖体であるhesperidinである。本化合物の構造は、図に示したとおりで、アグリコンhesperetinの7-*O*-rutiosideである。また、本化合物は別に日本薬局方外医薬品規格にも収載されている。

flavanoneは、flavoneの2位、3位の二重結合が還元された構造を持つため、2位は光学活性で、天然のhesperidinは2S体であることが明らかにされている。従って、2R体であるepi-hesperidinは、hesperidinとはジアステレオマーの関係となり、その諸性質は異なる。しかし、両者はジアステレオマーであっても、その分

離が難しく、通常の逆相カラムを用いたHPLCでの分離の報告はない。また、hesperidinは種々の溶媒に溶けにくい為、精製の際、溶媒に溶けやすいchalcone体に変換して精製する場合が多く、この場合、2位の立体が保持されず、精製物ではhesperidinとepi-hesperidinの混合物となると考えられる。事実、¹H-NMRを用いて、hesperidinとして市販されている試薬を測定すると、2つの化合物由来と考えられるシグナルが明瞭に観測される。

最近になって我々は、順相のキラルカラムを用いることで、これらの両化合物がHPLC上でうまく分離することを見いだした。また、検出器にCDを使用することで、このような化合物の2R体と2S体が容易に区別できることを示した(Uchiyama, N. *et al.*: *Chirality*, **17**, 373-377 (2005).)。

確立した条件を用いて、hesperidinとして流通する13試料を分析したところ、2S体(hesperidin)と2R体(epi-

hesperidin)の相対比が、92:8から、59:41まで様々であることを確認した。また、同じくflavanone配糖体であるnarirutinでは、同比が50:50、neohesperidinでは、84:16であった。ジアステレオマー混合物を単一化合物のような名称で呼ぶことは化学的に好ましくない。従って、これらの試料は、本来ならジアステレオマー混合物であることを明記する必要があると考えられる。

次に、市販の生薬チンピを室温下メタノールで抽出して抽出液についてhesperidinとepi-hesperidinについて分析を行った。その結果、*C. unshiu*由来4検体、*C. reticulata*由来3検体の抽出液とも2S体:2R体比が96:4以上で、天然では、明らかに2S体で存在しているものと考えられた。また、narirutinについて同様の分析を行ったところ、2S体の割合が相対比で61%以上となり、大きく減少した。B環の4位の水酸基がquinoyl構造に変化することで、2位のラセミ化を促

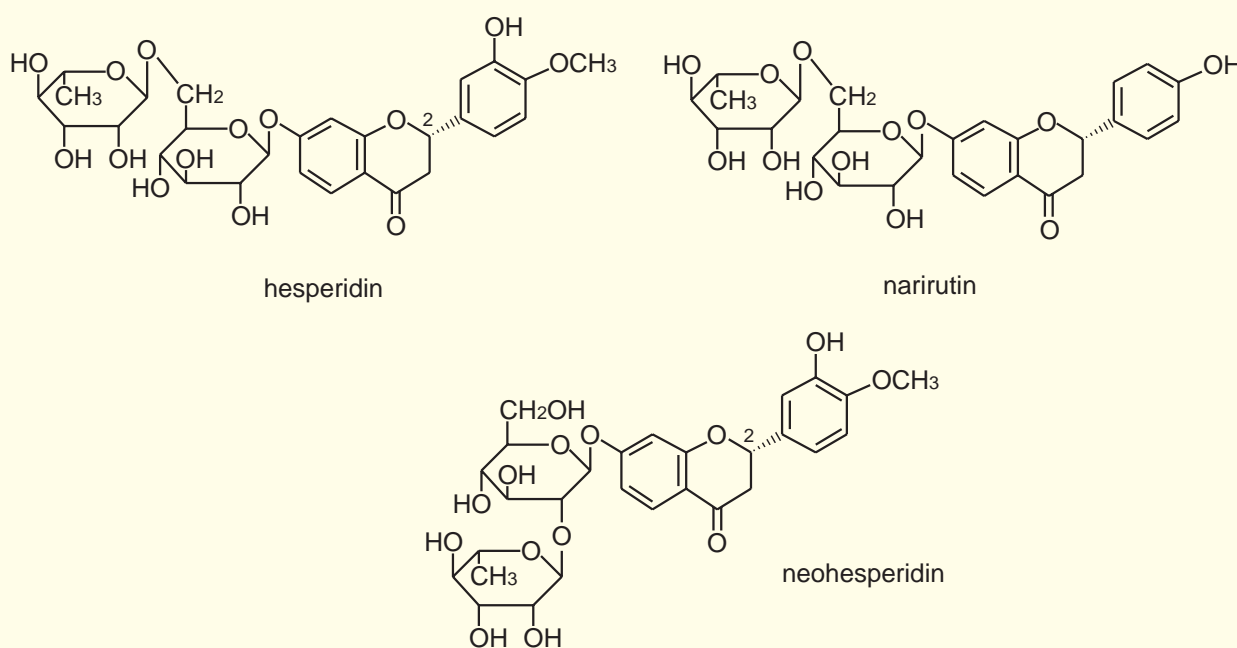


Fig. Chemical structures of flavanone 7-*O*-glycosides

進することは容易に予想できる。試薬として市販されているnarirutinの2S体：2R体比が、1：1であることも、このことから説明できるものと考えられる。

さらに、市販の医療用漢方処方エキス製剤である六君子湯（りっくんしとう）8製品と釣藤散（ちょうとうさん）3製品について同様の分析を行った。その結果、2S体：2R体比は、前者で67：33～87：13、後者で84：16～92：8であることが判明した。市販のエキス製剤では、熱水抽出を行い

スプレードライ乾燥を行うため、その間に、市販のチンピで保持されていたhesperidinが2位でラセミ化を起こしたものと推測される。

現在日本薬局方の生薬等委員会では、生薬及び、生薬・漢方製剤の品質を確保する目的で、生薬や製剤について確認試験法の設定や成分含量測定法の設定を行っている。そのため様々な指標成分について検討している。本年になって、和光純薬より2R体をほとんど含まないhesperidinが市販されることになった。化学的

合成品と異なり生薬の場合、製薬メーカーから日本薬局方の標準品が直接提供されることはない。従って、市販試薬を成分含量測定用試薬として活用させて頂く場合が多いが、本品は、生薬等委員会との協力で和光純薬より新たに調製されたものである。医薬品の場合、立体も含めた構造が明確であることは、非常に重要である。従って、引き続きこのように立体構造も明確な天然物由来の試薬が、順次販売されることを望む。

Products

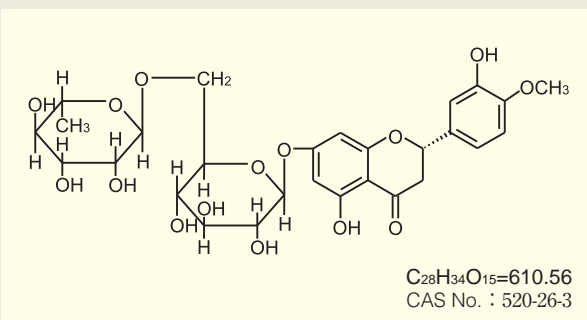


ヘスペリジン異性体

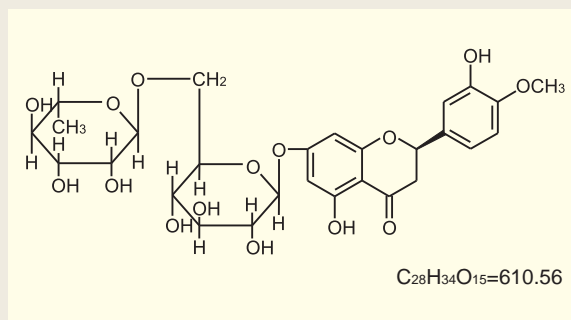
ヘスペリジンはかんきつ類に含有されるサポニン有効成分で、水溶性ビタミン様物質のビタミンPとも呼ばれます。ヘスペリジンを含むサプリメントは多く市販されており、ビタミンC効果持続と中性脂肪改善などの作用が報告されています。

天然に存在するヘスペリジンは、光学活性体ですが、水溶液中での加熱などで2位の立体が容易に反転し、エピ体との混合物になります。今回、キラル分割したヘスペリジン（S体）とエピヘスペリジン（R体）の各標準品を発売しました。（ヘスペリジンは第十四改正日本薬局方の試薬・試液の項には未収載ですが、第十五局の改正案として示された日本薬局方フォーラム14.2 p405に追加される試薬・試液の項に記載されており、第十五局に収載される予定です）

起 源： *Citrus natsudaidai*, *Citrus unshiu*, *Citrus aurantium* var *daidai*



Hesperidin



Epihesperidin

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
082-08221	Hesperidin Standard	生薬試験用	10mg	50,000
085-08211	Epihesperidin Standard	生薬試験用	10mg	50,000

第61話 SLP試薬の応用(その3)

このところSLPの話題が多くなってきました。今回は第59話の続報です。第59話は医療関係者がアイコデキストリンによる無菌性腹膜炎について報告したものでしたが、今回ご紹介する報告¹⁾は、アイコデキストリンのメーカーによるもので、*The Lancet*という医学雑誌に掲載されたものです。

腹膜透析用透析液の浸透圧を調整するために用いられるアイコデキストリンに関しては、第59話でお話しました。このアイコデキストリンを用いた透析液を使用したことによると思われる無菌性腹膜炎が、2002年に多発しました。症状としては、腹痛、吐き気、嘔吐、発熱などで、透析廃液が濁るという現象が観察されています。透析廃液の分析で感染の証拠が得られず無菌性腹膜炎と診断されています。無菌性腹膜炎は、透析液のエンドトキシン汚染が原因で発生したことが1977年に報告されており、1998年にも同様の流行が報告されているそうです¹⁾。しかし、今回発生した無菌性腹膜炎では、原因と思われる透析液はすべて、局方に定められたエンドトキシン試験や無菌試験、GMPによる規制に適合しており、エンドキシンの汚染によるものとは考えられませんでした。

この製品による無菌性腹膜炎の報告は、2000年に0.095%であったものが、

2001年に徐々に上昇し、2002年の3月には最高の1.04%となっています。彼らは2001年9月から2003年1月の間に報告された186例の無菌性腹膜炎の記録について分析を行っており、好中球、リンパ球、マクロファージの増加が認められ、1立方ミリあたり300から3,500個の細胞数となっていたこと、通常の血液培養や透析液培養の結果が陰性であったこと、アイコデキストリンの使用をやめると症状が回復したことなどを確認しています。

透析液の分析には、9人の患者(ブドウ糖透析液使用：6人、アイコデキストリン透析液使用で腹膜炎なし：2人、アイコデキストリン使用で腹膜炎あり：1人)から決められた条件で採取されたサンプルを使用しています。家庭で採取されたサンプルの分析を試みたようですが、サンプルの取扱いや保存方法に問題があり、検討には使用できなかったそうです。LAL試験に用いるサンプルもそうですが、微生物に関する試料採取の難しさを、ここでもかいま見ることができます。

分析の結果、アイコデキストリンによる腹膜炎ではインターロイキン-6(IL-6)の濃度が5,000ng/ℓ以上(他の群では59ng/ℓ)と大きく上昇していたにもかかわらず、IL-1βやTNFαには違いが認められなかったこと、タンパク質濃度が腹膜炎で高くなっていたことが判りました。この傾向は通常の感染症やエンドトキシン汚染による症状とは異なっています。

彼らはこれらの観察を元に、末梢血単核球(PBMC)を用いたサイトカイン産生系による製品及び原料の分析を行っています。その結果、クレームのあった製品及びその原料で高いIL-6産生が確認されました。この結果が

エンドトキシン活性を抑制するポリミキシンBの添加で影響を受けなかったこと、これらの試料がリムルス試験で合格していることから、サイトカイン産生の原因物質がエンドトキシンではないと考察しています。さらに彼らは、SLP試薬を用いて測定を行いPBMCによる測定と整合性のある結果を得ています。原料の供給は2社から受けており、その内の1社の原料から高いIL-6産生活性及びSLP活性が検出されました。この会社の原料から*Alicyclobacillus acidocaldarius*という好熱好酸グラム陽性菌が検出されており、この菌のペプチドグリカンが汚染源ではないかと、彼らは考察しています。

SLP試薬によるペプチドグリカン測定値が60μg/ℓの製品のクレーム発生率は、検出限界以下(7.4μg/ℓ以下)の製品のものに比べて10倍以上と有意な差が認められたこともあり、ペプチドグリカン濃度が10μg/ℓのロットは2002年5月にリコールされています。

原料メーカーでもろ過工程の見直しや活性炭処理などの改善を行い、SLP試薬による日常検査を導入することにより、品質は改善されたとのことでした。

今回の報告では、ペプチドグリカンの汚染が医薬品の副作用を引き起こすことがあること、局方で規定されているエンドトキシン試験やウサギ発熱試験ではこのような汚染を見逃してしまうことが明らかになったと思います。エンドトキシン試験の重要性は揺るぎないものですが、SLP試薬も医薬品や医療用具の安全性を確保するために有用な場合があると考えられます。

[参考文献]

1) Martis, L. et al.: *Lancet*, 365, 588(2005).

今回は、第62話「アメリカのカブトガニ事情」の予定です。

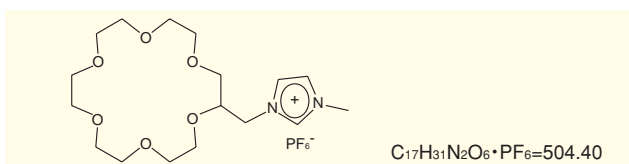


コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-51501	SLP Reagent Set	微生物研究用	3ml用	19,000

クラウンエーテル担持イオン性液体

1-(2-メチル-18-クラウン-6)-3-メチルイミダゾリウムヘキサフルオロリン酸塩

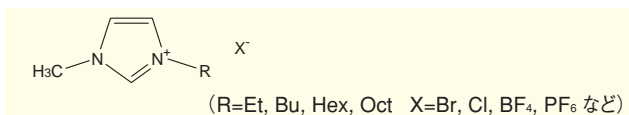
クラウンエーテル担持イオン性液体は、従来から用いられているクラウンエーテルと同様に K^+ を反応系から除去して反応を促進する作用を有しており、アシル化反応などにおいて触媒量での使用が可能です。また、水でクラウンエーテル部位がトラップした K^+ を洗浄することができ、イオン性液体を溶媒として用いることにより本品の回収、再利用が可能です。



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
134-14981	1-(2-Methyl-18-crown-6)-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate	有機合成用	100mg	8,000
130-14983			500mg	28,000

関連商品

当社では、以下のイミダゾリウム型イオン性液体を取り揃えております。



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
055-07331	1-Ethyl-3-methylimidazolium Bromide	有機合成用	5g	近日発売
053-07332			25g	近日発売
054-07301	1-Ethyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate	有機合成用	5g	9,500
052-07302			25g	35,000
059-07111	1-Ethyl-3-methylimidazolium Trifluoromethanesulfonate	有機合成用	10g	20,000
051-07311	1-Ethyl-3-methylimidazolium p-Toluenesulfonate	有機合成用	5g	近日発売
059-07312			25g	近日発売
027-15201	1-Butyl-3-methylimidazolium Chloride	有機合成用	5g	3,500
025-15202			25g	8,000
027-15181	1-Butyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate	有機合成用	5g	5,000
025-15182			25g	15,000
024-15211	1-Butyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate	有機合成用	5g	6,500
022-15212			25g	19,000
024-15191	1-Butyl-3-methylimidazolium Trifluoromethanesulfonate	有機合成用	1g	5,500
020-15193			5g	19,000
088-08201	1-Hexyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate	有機合成用	5g	7,500
086-08202			25g	28,000
085-08191	1-Hexyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate	有機合成用	5g	7,000
083-08192			25g	26,000
135-14771	1-Methyl-3-octylimidazolium Tetrafluoroborate	有機合成用	5g	8,000
133-14772			25g	25,000
138-14761	1-Methyl-3-octylimidazolium Hexafluorophosphate	有機合成用	5g	8,000
136-14762			25g	30,000

固相抽出カラム

プレセップ® DEA

プレセップ® QA

プレセップ® CM

プレセップ® S

「Presep®シリーズ」はシリンジ型の固相抽出カラムです。今回、ポリマー系イオン交換樹脂を充てんした、イオン交換カラム4種を追加しました。環境分析、食品分析他、幅広い分野において、試料の前処理に使用されます。用途に応じて、カラムを選択いただけます。

仕様

カラム容量：6mℓシリンジ型カラム

充てん剤量：250mg

充てん剤粒径：45~90μm

充てん剤の特性：

品名	種類	交換基	供給タイプ	交換容量 (meq/カラムdry)
DEA	弱塩基性陰イオン	ジエチルアミノエチル	Cl型	0.114±0.013
QA	強塩基性陰イオン	トリメチルアミノエチル	Cl型	0.110±0.013
CM	弱酸性陽イオン	カルボキシメチル	Na型	0.103±0.013
S	強酸性陽イオン	スルホニルプロピル	Na型	0.125±0.013

〔参考資料〕

吉田貴三子：和光純薬時報 73(3), 10(2005).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
292-61701	Presep® DEA (250mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	35,000
296-61601	Presep® QA (250mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	35,000
298-61801	Presep® CM (250mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	35,000
294-61901	Presep® S (250mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	35,000

関連商品

Presep®RPPは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)
294-36851	Presep® RPP (60mg/3mℓ)	試料前処理用	10個×5	25,000
290-36951	Presep® RPP (200mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	32,500
290-37051	Presep® RPP (500mg/6mℓ)	試料前処理用	10個×5	37,500

日本薬局方適合 生薬有効成分

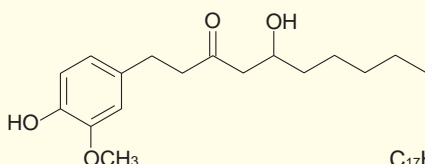


[6]-gingerol

本品はショウキョウ(ショウガ)に含有される有効成分です。多くの薬理作用があり、例えばマウス及びラット摘出血管で収縮抑制または増強作用が報告されています。

起 源：Zingiber officinale Roscoe (Zingiberaceae)

CAS No. : 23513-14-6



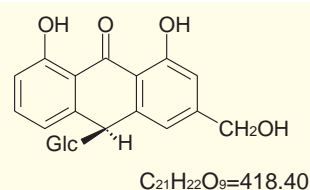
コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
074-05061	[6]-Gingerol	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフ用)	20mg	15,000

Barbaloin

本品はアロエに含有される有効成分です。ラットにアロエ末を経口投与した場合、瀉下(シャカ)作用があります。

起 源：Aloe ferox Miller, Aloe africana Miller または Aloe spicata Baker

CAS No. : 1415-73-2



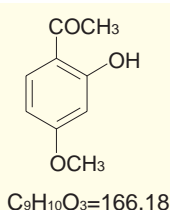
コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
028-15231	Barbaloin	局方生薬試験用 (成分含量測定用・ 薄層クロマトグラフ用)	10mg	12,000

Paeonol

本品はボタン(牡丹)の根皮に含有される有効成分です。多くの薬理作用が報告されており、煎出エキスをラットに投与するとアジュバント関節炎抑制作用があります。

起 源：Paeonia suffruticosa Andrews
(Paeonia moutan Sims)
(Paeoniaceae)

CAS No. : 552-41-0



コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
167-21721	Paeonol	局方生薬試験用 (成分含量測定用・ 薄層クロマトグラフ用)	10mg	15,000

ポジティブリスト 関連品目 (動物用医薬品標準品)



高速液体クロマトグラフ用

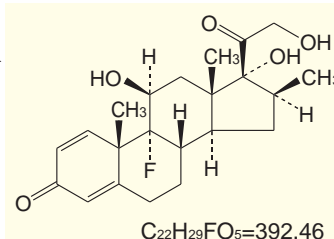
食品衛生法などの一部を改正する法律(平成15年法律第55号)により、食品に残留する農薬、動物用医薬品または飼料添加物に関し、いわゆるポジティブリスト制度が導入されました。このたび、HPLCで分析する際に使用できる動物用医薬品の標準品を商品化しました。

これからも順次、品目を増やしていく予定です。ご活用頂けますよう、宜しくお願いします。

Betamethasone Standard

CAS No. : 378-44-9

含量(HPLC) : 98.0%以上

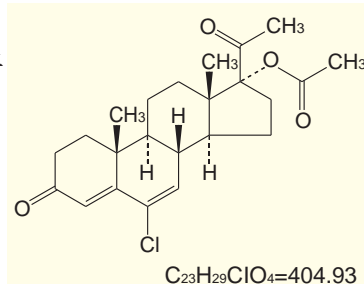


コードNo.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
026-15271	Betamethasone Standard	200mg	8,000

Chlormadinone Standard

CAS No. : 302-22-7

含量(HPLC) : 99.0%以上

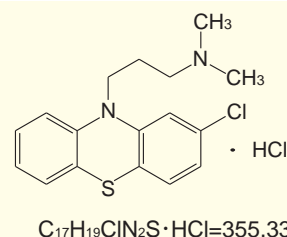


コードNo.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
034-19531	Chlormadinone Acetate Standard	200mg	8,000

Chlorpromazine Hydrochloride Standard

CAS No. : 69-09-0

含量(HPLC) : 98.0%以上



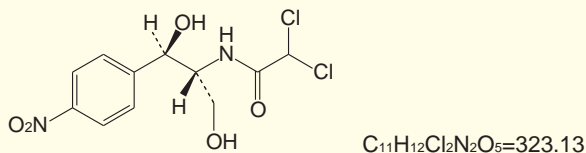
コードNo.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
036-19611	Chlorpromazine Hydrochloride Standard	200mg	8,000

[次頁に続く]

クロラムフェニコール標準品

CAS No. : 56-75-7

含量 (HPLC) : 98.0%以上

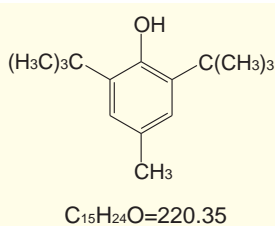


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
037-19641	Chloramphenicol Standard	200mg	6,000

ジブチルヒドロキシトルエン標準品

CAS No. : 128-37-0

含量 (HPLC) : 98.0%以上

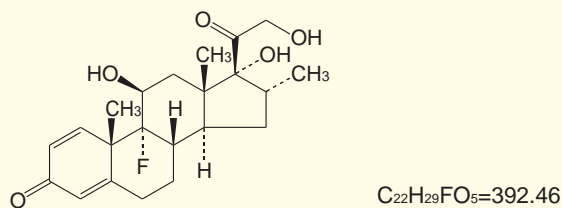


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
047-29451	Dibutylhydroxytoluene Standard	200mg	4,500

デキサメタゾン標準品

CAS No. : 50-02-2

含量 (HPLC) : 98.0%以上

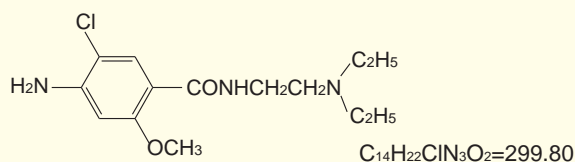


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
045-29491	Dexamethasone Standard	200mg	8,000

メトクロプラミド標準品

CAS No. : 364-62-5

含量 (HPLC) : 98.0%以上

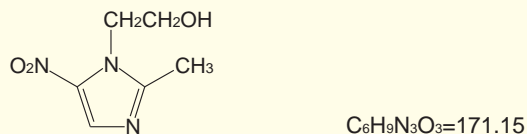


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
132-14921	Metoclopramide Standard	200mg	8,000

メトロナゾール標準品

CAS No. : 443-48-1

含量 (HPLC) : 98.0%以上

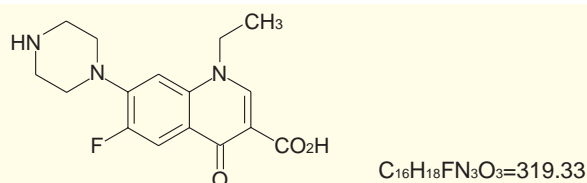


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
139-14931	Metronidazole Standard	200mg	8,000

ノルフロキサシン標準品

CAS No. : 70458-96-7

含量 (HPLC) : 98.0%以上

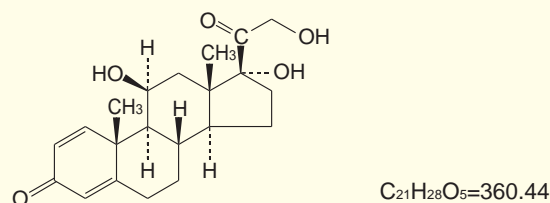


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
149-08241	Norfloxacin Standard	200mg	5,500

プレドニゾロン標準品

CAS No. : 50-24-8

含量 (HPLC) : 98.0%以上

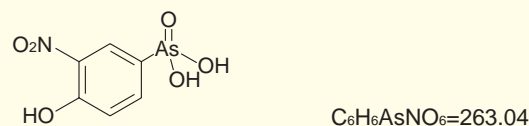


コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
162-21911	Prednisolone Standard	200mg	7,000

ロキサルゾン標準品

CAS No. : 121-19-7

含量 (HPLC) : 98.0%以上



コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
181-01941	Roxarsone Standard	200mg	8,000

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、「水質基準項目」をはじめとする各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。

水質基準項目

■クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸試験用 混合標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
086-07261	Haloacetic Acid Mixture Standard Solution (1mg/ml t-Butyl Methyl Ether Solution) 組成:プロモ酢酸、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸	水質試験用	2mℓ×10A	12,000
035-19321	3 Chlorinated Acetic Acids Mixture Standard Solution (1mg/ml t-Butyl Methyl Ether Solution) 組成:クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸	水質試験用	1mℓ×5A	7,000
030-19631	3 Chlorinated Acetic Acid Methyl Esters Mixture Standard Solution (1mg/ml t-Butyl Methyl Ether Solution) 組成:クロロ酢酸メチル、ジクロロ酢酸メチル、トリクロロ酢酸メチル	水質試験用	2mℓ×5A	8,000

関連商品

メチルエステル誘導体化に用いるジアゾメタン発生用試薬。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
138-14901	1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine	—	5g	8,000

水質管理目標設定項目

■フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
162-21891	Phenanthrene-d ₁₀ Standard Solution (1mg/ml Hexane Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	8,500

■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t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

■ノニルフェノール、ビスフェノールA試験用 内部標準液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
165-21881	Pyrene-d ₁₀ Standard Solution (0.2mg/ml Dichloromethane Solution)	水質試験用	2mℓ×5A	8,000

* 測定方法参考文献 上水試験法2001(日本水道協会)。

ダイオキシン類分析用 ジメチルスルホキシド



ご好評いただいているダイオキシン類分析用溶媒にこのたび新たに、ジメチルスルホキシドを追加しました。

本品は、高分解能GC/MS法でジベンゾ-p-ジオキシン、ジベンゾフラン及びコプラナーPCBを測定し、実用上問題ないとされている低濃度を保証しております。標準液の調製、ELISAキットでの使用、DMSO分配といったダイオキシン類分析の各工程にご使用になれます。

規格

外観：無色澄明の液体
 含量(毛管カラムGC)：99.0%以上
 密度(20℃)：1.100~1.106g/mℓ
 ダイオキシン類分析適合性：試験適合

ダイオキシン類分析適合性

ジベンゾ-p-ジオキシン	4~7塩素化物	5fg/μℓ 以下
	8塩素化物	10fg/μℓ 以下
ジベンゾフラン	4~7塩素化物	5fg/μℓ 以下
	8塩素化物	10fg/μℓ 以下
コプラナーPCB		5fg/μℓ 以下

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
041-29395	Dimethyl Sulfoxide	ダイオキシン類分析用	500mℓ	4,000

ガスクロマトグラフ用



10%塩化水素1-ブタノール溶液

カルボン酸などのブチルエステル化剤です。ガスクロマトグラフ分析の前処理用試薬としてご使用いただけます。

規格

外 観：無色透明の液体
水 分：0.2%以下
GC分析適合性：適合
濃 度：9.0~10.0%

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
080-08261	10% Hydrogen Chloride 1-Butanol Solution	ガスクロマトグラフ用	1ml×10A	8,000

関連商品

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
089-03971	5% Hydrogen Chloride Methanol Solution	ガスクロマトグラフ用	1ml×10A	6,000
029-06172	Boron Trifluoride Methanol Complex Methanol Solution	ガスクロマトグラフ用	25g	2,200
021-06171			400g	8,800
044-17371	N,N-Dimethylformamide Di-n-butyl Acetal	ガスクロマトグラフ用	5ml	4,200
049-18161	N,N-Dimethylformamide Di-t-butyl Acetal	ガスクロマトグラフ用	5ml	24,000
047-17361	N,N-Dimethylformamide Diethyl Acetal	ガスクロマトグラフ用	5ml	12,000
043-17363			1ml×10	27,000
040-17351	N,N-Dimethylformamide Dimethyl Acetal	ガスクロマトグラフ用	5ml	5,000
046-17353			1ml×10	13,000

非標識で細胞数・細胞形態変化をリアルタイム自動測定



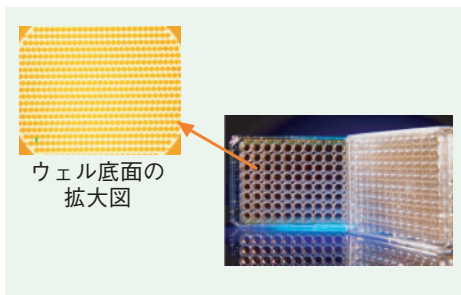
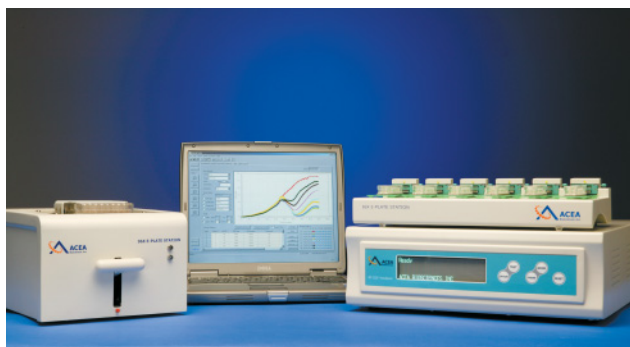
RT-CES™：リアルタイム細胞計測システム

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す。マイクロプレート底面の微細金電極センサーにより培養細胞（接着細胞）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、非標識のため生体に近い状態で細胞を測定できます。

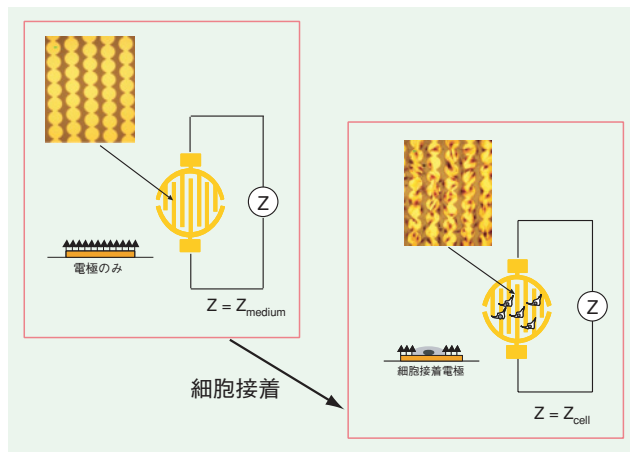
本システムは、100種類以上の株化細胞と初代培養細胞での実績があり、今後、さらにアプリケーションを追加していく予定です。

応用例

- 細胞増殖・細胞毒性の測定
- 細胞接着・細胞伸展の測定
- 細胞でのレセプターリガンド相互作用の測定
GPCR、受容体型チロシンキナーゼ、IgEレセプター、EGFレセプター など
- 内皮細胞バリアー機能の測定
- NK細胞の細胞傷害活性の測定



測定原理と模式図



ウェル底面の金電極に細胞が接着したことによる電気抵抗値の変化を測定します。それにより細胞の状態の変化を捉えることができます。

**共存するプロインスリンの交差性を抑え、
インスリンのみを特異的に測定**



レビス®インスリンSタイプシリーズ

本キットはモノクローナル抗体を使用したサンドイッチELISA法により共存するプロインスリンの影響をほとんど受けずにインスリンのみを特異的かつ高感度に測定するキットです。

特長

- 共存するプロインスリンの交差性を抑え、インスリンを特異的に測定
交差率：5%未満
- 短時間で測定可能
反応時間：2時間50分
- 微量な試料で測定可能
標準操作法は10 μ l
- すべての試薬が溶液タイプで即座に使用可能



キット構成

- 抗体固相化プレート 96ウェル×1
- 標準インスリン溶液(ラット) (200ng/ml) 50 μ l×1
- 緩衝液 60ml×1
- ビオチン結合抗インスリン抗体 200 μ l×1
- ペルオキシダーゼ・アビジン結合物 200 μ l×1
- 発色液(TMB) 12ml×1
- 反応停止液(1M H₂SO₄) 12ml×1
- 濃縮洗浄液(10 \times) 100ml×1

交差反応

レビス®インスリン-ラット(Sタイプ)の交差性

対象物質	反応性(%)
Rat Insulin	100
Rat Proinsulin	< 5
Rat C-peptide	検出感度以下
Mouse Insulin	102
Mouse C-peptide	検出感度以下
Porcine Insulin	120
Dog Insulin	交差あり
Bovine Insulin	交差あり
Human Insulin	185
Rabbit Insulin	180

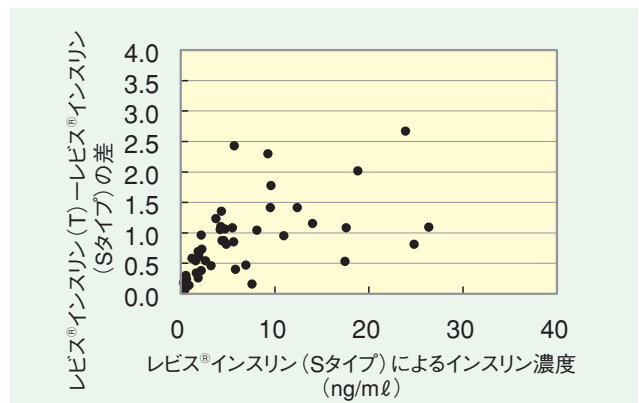
データ

レビス®インスリンキット(T,Sタイプ)による同一検体の比較

インスリン濃度 (ng/ml)		インスリン濃度差 (ng/ml)
レビス®インスリン-ラット-T	レビス®インスリン-ラット(Sタイプ)	
0.76	0.58	0.18 (23.7%)
5.6	4.6	1.0 (17.9%)
26.5	24.9	1.6 (6.0%)

レビス®インスリン-ラット-T(プロインスリン・インスリンと反応)の値からレビス®インスリン-ラット(Sタイプ)(インスリン特異的)の値を引くことで血中のプロインスリン濃度が推測できる

検体：ラットノーマル、疾患ラットを含む、6~16週令、♀、血漿採血(ヘパリン採血)



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
637-07191	AKRIN-010S	Lbis® Insulin-Rat (S type)	96回用	62,000
636-07281	AKRIN-011S	Lbis® Insulin-Mouse (S type)	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)
637-01471	AKRIN-010T	Lbis® Insulin-Rat-T	96回用	45,000
634-01481	AKRIN-011T	Lbis® Insulin-Mouse-T	96回用	48,000
631-07231	AKRCP-031	Lbis® C-Peptide-Mouse (U type)	96回用	65,000
639-07271	AKRCP-030	Lbis® C-Peptide-Rat (U type)	96回用	75,000
632-07141	AKRRS-011	Lbis® Resistin Mouse	96回用	62,000

タンパク質サイズマーカー

9,800円で約200回分です！

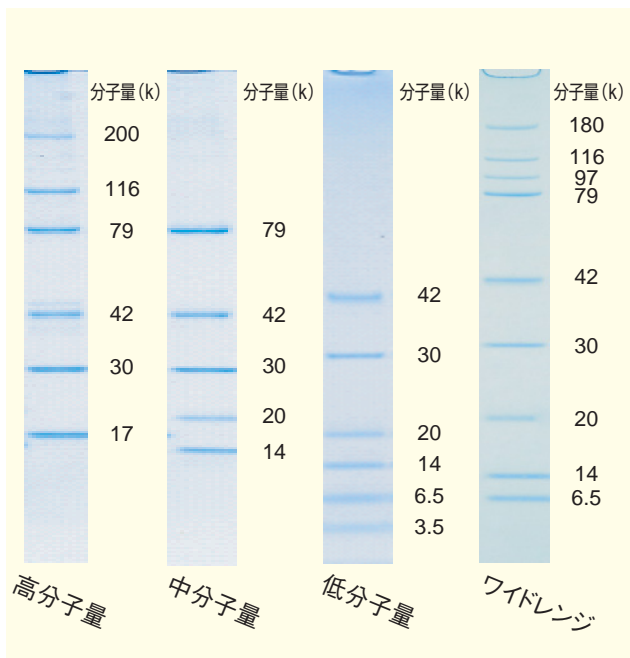
分子量マーカー
(高分子量、中分子量、低分子量、
ワイドレンジ)

本品は、未着色のタンパク質サイズマーカーです。タンパク質バンドは還元アルキル化されていますので、その染色像は鮮明で、各バンドが均一に染色されます。高分子量、中分子量、低分子量、ワイドレンジの4種類がありますので、目的に応じてご使用下さい。

推奨アプライ量 5 μ l/Lane

形状 凍結乾燥品

保存条件 2~10 $^{\circ}$ C 保存



コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	1ml用	9,800
131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	1ml用	9,800
294-63101	Molecular Weight Marker, Low Range	1ml用	9,800
296-63301	Molecular Weight Marker, Wide Range	1ml用	9,800

識別しやすいデュアルカラー

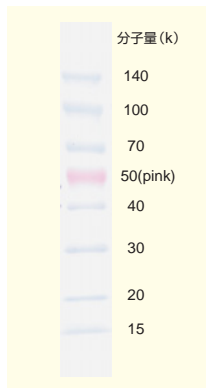
ワイドビュー™ プレステイン
タンパク質サイズマーカー

本品は、着色済みのタンパク質サイズマーカーです。含まれる8つのリコンビナントタンパク質には、青色とピンク色の発色団が共有結合しており、50kのバンドはピンク色、その他のバンドは青色を呈します。また、溶解後はボイルなしでそのまま使用できる簡単設計です。

推奨アプライ量 1-5 μ l/Lane

形状 凍結品

保存条件 -20 $^{\circ}$ C 保存



コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	500 μ l	18,000

ウエスタンブロット用

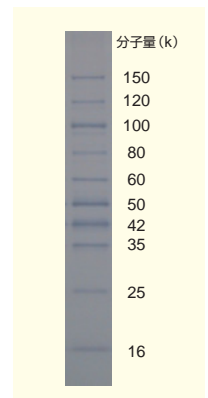
ワイドビュー™ ウェスタン
サイズマーカー

本品は、ウエスタン用のタンパク質サイズマーカーです。免疫グロブリンと結合能を持つリコンビナントタンパク質(プロテインG)により、ウエスタンブロットの一次抗体、二次抗体の両方に反応します。さらに、リコンビナントタンパク質は高純度に精製されていますので、シャープではっきりしたバンドが得られます。また、分子量は正確で再現性のある結果が得られます。

推奨アプライ量 1-5 μ l/Lane

形状 凍結品

保存条件 -20 $^{\circ}$ C 保存



コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	250 μ l	20,000

6品目追加!



サイトカイン

このたび当社のサイトカインの品揃えに新規品目を追加しました。

■CTGF,ヒト,組換え体

起 源: Human CTGF cDNA expressed in *E. coli*
活 性: ED₅₀=1.0~2.0μg/ml (HUVEC細胞株の用量依存的増殖テストによる)

■CTGFL,ヒト,組換え体

起 源: Human CTGFL cDNA expressed in *E. coli*
活 性: ED₅₀=10~20ng/ml (IGF-Ⅱ阻害テストによる)

■GDF-3,ヒト,組換え体

起 源: Human GDF-3 cDNA expressed in *E. coli*
活 性: 未試験

■HB-EGF,ヒト,組換え体

起 源: Human HB-EGF cDNA expressed in *E. coli*
活 性: ED₅₀≤1.0ng/ml (balb/c 3T3細胞株の用量依存的増殖テストによる)

■Wnt-1,ヒト,組換え体

起 源: Human Wnt-1 cDNA expressed in *E. coli*
活 性: ED₅₀=1.5~2.5ng/ml (マウスATDC5細胞でBMP-2が誘導するアルカリホスファターゼ産生増大能による)

■Flt3リガンド,マウス,組換え体

起 源: Mouse Flt3 ligand cDNA expressed in *E. coli*
活 性: CD11c⁺ 脾臓樹状細胞生成能による

共通規格

エンドトキシン: 0.1ng/μg (1EU/μg) 以下
形 状: 凍結乾燥品

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
036-19471	CTGF, Human, recombinant	細胞生物学用	20μg	39,000
033-19481	CTGFL, Human, recombinant	細胞生物学用	20μg	39,000
072-05121	GDF-3, Human, recombinant	細胞生物学用	20μg	39,000
084-08281	HB-EGF, Human, recombinant	細胞生物学用	50μg	39,000
231-02251	Wnt-1, Human, recombinant	細胞生物学用	10μg	39,000
063-04631	Flt3 Ligand, Mouse, recombinant	細胞生物学用	10μg	39,000

逆転写酵素



リバースクリプト® IV

本品はMolonyマウス白血病ウイルス(MMLV)由来の逆転写酵素遺伝子に点突然変異を加え、RNase H活性を除去しています。野生型MMLV-RTよりも長いcDNAを合成することができます。

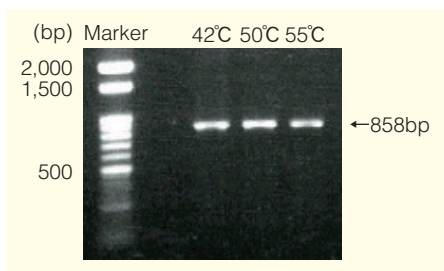
特 長

- 安価に長鎖のcDNAが合成可能(9,000nt)
- 55℃で安定に合成可能
- RNase H活性の除去

RT-PCRの実験例

高温による影響

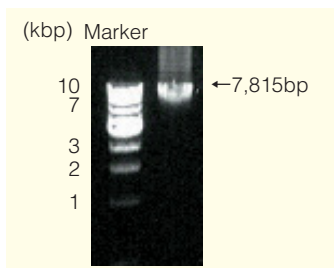
<逆転写反応>	<PCR>
鋳 型: ヒト肺がん細胞株A549 由来のtotal RNA 5μg プライマー: Oligo dTプライマー 反 応 系: 20μl ↓ 反応温度: 42℃, 50℃, 55℃ 反応時間: 50分間	鋳 型: 逆転写反応液 1μl プライマー: GAPDH cDNA 858bp 断片増幅用 酵 素: 長鎖Taq DNA Polymerase ↓ 反応サイクル: 20サイクル



42℃~55℃の範囲で合成できます。

長鎖cDNAの合成

<逆転写反応>	<PCR>
鋳 型: ヒト肺がん細胞株A549 由来のtotal RNA 5μg プライマー: Oligo dTプライマー 反 応 系: 20μl ↓ 反応温度: 42℃ 反応時間: 50分間	鋳 型: 逆転写反応液 1μl プライマー: IGFⅡR cDNA 7,815bp 断片増幅用 酵 素: 長鎖Taq DNA Polymerase ↓ 反応サイクル: 30サイクル



Oligo-dT primerで逆転写した産物からでも、約8kbpのcDNAが検出できた。

構 成	ReverScript® IV	10,000units
	Reaction Buffer	1ml

活 性 200units/μl

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
298-63001	ReverScript® IV	遺伝子研究用	10,000units	30,000

本品はReverScript® II (187-01781)の代替品となります。

関連商品

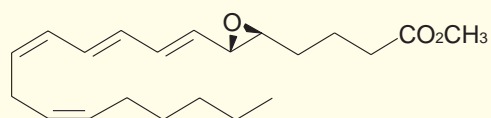
コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
043-29291	dNTP Mix	分子生物学用	0.2ml	9,000

強力な炎症起因为物質

ロイコトリエン



ロイコトリエンは動物組織中でアラキドン酸などから合成される一群の生理活性物質です。生体内でさまざまな反応に関与しており、アレルギーや喘息などの治療薬ターゲット分子としても大変注目されています。



$C_{21}H_{32}O_3=332.48$
Leukotriene A4 methyl ester

コードNo.	メーカーコード	品名	CAS No.	容量	希望納入価格(円)
—	—	Leukotriene A3 methyl ester (Hexane Solution) トリエチルアミン1%含有	83851-38-1	25 μ g	11,900
558-70641	20009			50 μ g	22,600
—	—			100 μ g	42,000
—	—			500 μ g	166,600
—	—	Leukotriene A4 methyl ester (Hexane Solution) トリエチルアミン1%含有	73466-12-3	25 μ g	11,900
556-68231	20010			50 μ g	22,600
—	—			100 μ g	42,000
—	—			500 μ g	166,600
—	—	Leukotriene B3 (Ethanol Solution)	88099-35-8	25 μ g	18,700
555-70651	20109			50 μ g	35,100
—	—			100 μ g	67,300
—	—			500 μ g	261,800
556-70681	—	12-epi Leukotriene B3 (Ethanol Solution)	—	25 μ g	45,000
—	20134			50 μ g	80,400
—	—			100 μ g	140,800
—	—			250 μ g	316,200
—	—	Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	71160-24-2	25 μ g	16,200
553-68241	20110			50 μ g	28,900
—	—			100 μ g	48,200
—	—			1mg	255,000
—	—	Leukotriene B4 Ethanolamide (Ethanol Solution)	—	25 μ g	16,200
552-70661	20112			50 μ g	28,800
—	—			100 μ g	51,900
—	—			500 μ g	212,500
—	—	Leukotriene B4 dimethyl amide (Methanol Solution)	83024-92-4	25 μ g	21,300
559-70671	20115			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			250 μ g	158,100
—	—	6-trans Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	71652-82-9	25 μ g	13,600
552-70781	35250			50 μ g	25,500
—	—			100 μ g	46,800
—	—			250 μ g	104,600
—	—	6-trans-12-epi Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	71548-19-1	25 μ g	13,600
559-70791	35265			50 μ g	25,500
—	—			100 μ g	46,800
—	—			250 μ g	104,600

コードNo.	メーカーコード	品名	CAS No.	容量	希望納入価格(円)
—	—	12-epi Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	83709-73-3	25 μ g	21,300
553-70691	20135			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			500 μ g	282,200
—	—	20-carboxy Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	80434-82-8	25 μ g	21,300
556-70701	20180			50 μ g	39,800
—	—			100 μ g	76,500
—	—			250 μ g	158,100
—	—	20-hydroxy Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	79516-82-8	25 μ g	21,300
553-70711	20190			50 μ g	39,800
—	—			100 μ g	76,500
—	—			500 μ g	297,500
—	—	20-trifluoro Leukotriene B4 (Ethanol Solution)	115178-97-7	25 μ g	21,300
550-70721	20195			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			500 μ g	282,200
—	—	Leukotriene C4 (95% Ethanol Solution) 5%水含有	72025-60-6	25 μ g	14,800
550-68251	20210			50 μ g	28,100
—	—			100 μ g	51,900
—	—			500 μ g	207,100
—	—	11-trans Leukotriene C4 (Ethanol Solution)	74841-69-3	25 μ g	21,300
557-70731	20230			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			250 μ g	158,100
—	—	Leukotriene D4 (95% Ethanol Solution) 5%水含有	73836-78-9	25 μ g	14,800
557-68261	20310			50 μ g	28,100
—	—			100 μ g	51,900
—	—			1mg	414,100
—	—	11-trans Leukotriene D4 (Ethanol Solution)	79768-40-4	25 μ g	21,300
554-70741	20330			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			250 μ g	158,100
—	—	Leukotriene E4 (Ethanol Solution)	75715-89-8	25 μ g	9,200
554-68271	20410			50 μ g	17,500
—	—			100 μ g	32,700
—	—			1mg	257,000
—	—	11-trans Leukotriene E4 (Ethanol Solution)	75715-88-7	25 μ g	21,300
558-70761	20430			50 μ g	37,700
—	—			100 μ g	70,600
—	—			250 μ g	158,100
—	—	N-acetyl Leukotriene E4 (Ethanol Solution)	80115-95-3	25 μ g	13,600
551-70751	20420			50 μ g	25,500
—	—			100 μ g	44,200
—	—			250 μ g	99,500
—	—	Leukotriene F4 (Methanol Solution)	83851-42-7	25 μ g	16,300
551-68281	20520			50 μ g	27,500
—	—			100 μ g	44,000
—	—			250 μ g	100,300
—	—	Leukotriene G4 (Methanol / Water Solution)	117675-20-4	25 μ g	25,500
555-70771	20610			50 μ g	45,000
—	—			100 μ g	81,600
—	—			250 μ g	183,600

詳しい情報は次の場所です。 <http://www.caymanchem.com/>

ヤコブス・ヘンリクス・ファント・ホフ (1852.8.30~1911.3.1)

科学史家 島尾 永康

遍歴時代

ヤコブス・ヘンリクス・ファント・ホフはロッテルダムの生まれ、生粋のオランダ人である。ということは16世紀末の建国以来代々のオランダ人である。父は開業医、母はワインを扱う大商人の娘である。小学校のころから、数学が得意で、歌とピアノ演奏が上手で、田舎歩きを好み、自然の美しさを文章にした。15歳で新設の実科学校(ドイツのリアル・シュールに相当するもので、古典語はやらない)に入り、ここで化学に興味をもった。

2年後17歳で卒業したとき、化学志望を両親に告げたが両親は賛成しなかった。それでもデルフトの工科学校に入った。休暇中に砂糖工場で働いたが、工業には興味ももてず、次第に純粋科学に傾いた。3年の課程を2年で卒業し、ライデン大学に入った(1871)。デルフトでは学べなかった高等数学が目的だった。バーンズ、ハイネ、バイロンの詩を読み、バイロン風の英詩を作ったりもした。一方、コントの『実証哲学』やヒューウェルの『帰納科学史』や科学者の伝記を愛読した。



図1. ファント・ホフ。50歳ころ。

このころ化学専攻を決めたが、ライデン大学の化学研究の設備は十分でなかったため、ボン大学に移り(図2)、有名なケクレに師事した(1872年秋)。しかしケクレを好きになれなかった。ボンには約10ヶ月いた。ケクレの有機構造論がファント・ホフに刺激を与えたのはたしかである。産業界に入らず、

研究を続けるようにと助言したのもケクレだった。ファント・ホフはパリ大学医学部の化学教授ヴェルツの許でも研究した(1874年初め)。このとき助手だったル・ベルに出会っている。帰国後ユトレヒト大学で博士論文にとりかかった。このころ立体化学を提唱するパンフレットを発表したが、化学界の注目を引かなかった。同年12月、シアン酢酸に関するごく平凡な論文を提出して博士学位を得た。立体化学を提唱する革命的な論文では学位審査に合格しにくいので、無難な論文を提出したのである。当時のヨーロッパの大学生は大学から大学へ自由に移動できたらしく、ファント・ホフは19歳から22歳まで3ヶ国の4大学を遍歴し、異なる学風に接した。

立体化学の創始

ヴィスリチェヌスは乳酸の異性体の研究で、構造式が同じで光学的性質



図2. ファント・ホフ。ボン大学在学中。21歳。

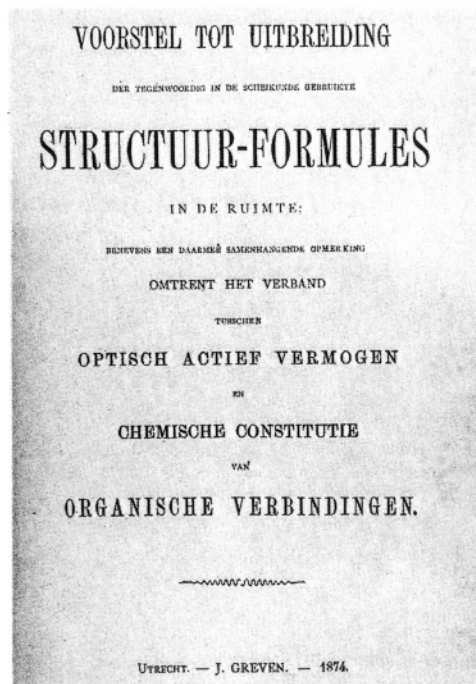


図3. 立体化学を提唱した最初の論文のタイトル・ページ。著者名はこのページにはなく、論文の末尾にある。

が違ふとすれば、その相違は原子の立体配置以外にはないとした(1873)。この論文に触発され、その期待に応えたのが、ファント・ホフの「現在の化学構造式を空間へ拡大する提案。ならびに有機化合物の光学活性と化学構造との関連についての考察」と題するオランダ語のパンフレット(11頁と図版1頁)である(図3)。22歳の誕生日の数日後、1874年9月5日の出版である。

炭素の原子価は4というケクレの提唱(1857)を踏まえて、炭素の原子価は正四面体の中心から角頂に向かっているとす。その角頂にそれぞれ異なる原子または原子団が結合しているとき、これを不斉炭素原子といい、互いに実物と鏡像の関係にある2つの四面体の配列を生じる。溶液が光学活性を示す炭素化合物には少なくとも1つの不斉炭素原子がある。しかしその逆は真ではなく、不斉炭素原子なくして光学活性を示す化合物の存在をファント・ホフは予告した。炭素原子が二重結合しているとき、幾何学異性(シストランス異性)を生じることも説明した。三重結合も論じた。炭素の原子価を正四面体で考えた化学者はケクレや

その他何人もいたので、かれが最初ではない。しかしこれを使って、光学異性と幾何学異性を説明したのはファント・ホフだけである。

ファント・ホフはこの論文を拡大して、フランス語版、『空間における化学』というパンフレット(44頁)を出版した(1875)。これに手作りの紙製の四面体模型(図4)を添えて、バイヤー、ブトレーロフ、ホフマン、ケクレ、フラン克蘭ド、ヴィスリチェヌス、ヴェルツ、ベルトゥロら多くの有名化学者に送った。ヴィスリチェヌスとバイヤーは熱心に賛同してくれたが、ベルトゥロからは批判され、コルベからは痛罵された。コルベはファント・ホフの考えを、かつて全ドイツを風靡した、思弁的な自然哲学の類と見たのである。結局、フランス語版もあまり読まれず、ヴィスリチェヌスの序文をつけた、ドイツ語版、『空間における化学』(1877)が出て始めて広く読まれるようになり、増訂版(1894、1908)も出版された。「空間における化学」を「立体化学」という近代的名称に変えたのはアウヴァースとヴィクトル・マイヤーである(1888)。

ファント・ホフの最初の論文に2ヶ月

遅れて、ル・ベルも「有機物質の分子式とその溶液の回転能との関係について」という論文を『パリ化学会誌』に発表した(1874年11月)。酒石酸分子の不斉構造と光学活性についてのパスツールの研究(1860)を踏まえたものである。ファント・ホフと結論は同じであるが、ル・ベルの論文は図形を全く使わず、抽象的である。ファント・ホフの論文の方が想像力豊かで幅も広い。両者はパリのヴェルツの研究室で出会っているが、ファント・ホフによれば、そのような問題を話し合ったことはないという。それぞれ独立に研究して、ほぼ同時に発表した。両者の間に先取権論争はない。ル・ベルはアカデミックな地位につかず、石油関係の家業を経営した。

創造性の最盛期:アムステルダム時代

ファント・ホフは博士学位を取っても、1年以上も就職できなかった。やっとあまり満足的でないユトレヒトの国立獣医学学校の講師となり、化学と物理を教えた(1876)。翌年9月、アムステルダム市立大学の講師になった。その2ヵ月後、大学は国立大学に昇格した。1878年6月、26歳で正教授となった。半年後、ロッテルダムの富裕な商人の娘、ヨハン・フランシーナ・メースと結婚した。アムステルダム大学には18年間在職した。有機化学、無機化学、結晶学、鉱物学、地質学、古生物学など、さまざまな講義をした上に、2人の助手とともに100人の医学生、10人の科学の学生の実習を指導した。管理的業務や雑務も少なくなかった。しかもこの間、反応速度論と化学平衡論を研究して、名著、『化学動力学の研究』を出し、さらに希薄溶液理論を確立するという大きな成果を挙げた。1887年には、ライプチヒ大学から物理化学教授への

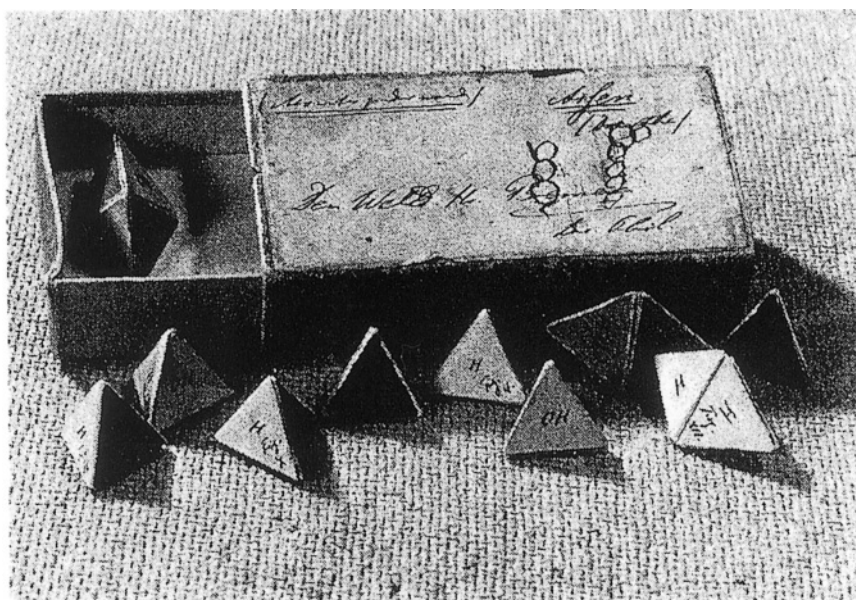


図4. ファント・ホフ手作りの紙製の四面体模型(1875)。

招聘があったが辞退した。就任したのはオストヴァルトである。ファント・ホフの設計にかかる新しい化学教室が1891年に開設されると、古い研究室では受け入れられなかった留学生も受け入れ、気のすまない管理的業務でますます忙殺されるようになった。そこで、「教育が義務であり、ときに研究もするという人のほかに、研究が義務であり、ときには教育もするという人もあってよいのではないか」と考えるようになった。1895年、ドイツから正にそのような地位を提供するという申し出があった。アムステルダム大学の同僚たちはかれを慰留するため、オランダにも同様な地位を作るよう政府に交渉したが実現しなかった。

物理化学の誕生

「物理化学」という名称は18世紀に早くも現れている。たとえばWallerius, *Chemia Physica*, 3 pts., (1759~83)がそれである。しかし物理化学が科学の一分野として成立したのは1880年代である。最も重要な出来事はファント・ホフの『化学動力学の研究』(214頁)(1884)の出版である。その前にかれがアムステルダム大学教授になって最初に発表した著作は、『有機化学についての見解』(1878~81)である。かれが研究を雑誌への投稿論文でなく、パンフレットや書物で発表しているのは、古い時代の、17世紀の科学者のようで面白い。化学といえば有機化学だった時代に、立体化学とか反応速度をテーマにしようとするれば、そうせざるを得なかったのかもしれない。この書物は題名は有機化学だが、実は化学における構造の問題を扱っている。今日、共有結合と呼ばれているものを、解釈しようとしたのである。しかし原子構造が知られていなかった当時、想像力によるアプローチしかなかった。

この本は当時の有機化学者には全く認められなかった。

『化学動力学の研究』はこれとは全く異なり、反応速度論、化学平衡論、親和力論を体系的に扱った最初の書物である。化学過程の研究に熱力学がいかに重要であるかを化学者に思い知らせた画期的な書物でもある。この本が導入した多くの新しい重要なアイデアの一つは、化学反応式の $=$ に替わって \rightleftharpoons を用いたことである(これをさらに1902年にマーシャルが修正して提案した \rightleftharpoons が現在使われている)。この記号は、化学平衡に達すると反応は止まるのではなく、反応は相反する二方向に等しい速度で起こっている、と反応速度論的に考えたことを示している。

もう一つの重要な革新は、化学反応を物質の数でなく、反応にかかわる分子数で分類したことである。のちにオストヴァルトが導入した「反応次数」の概念をすでに認知していたわけであり、これによって反応のメカニズムを考えることができた。1分子反応、2分子反応、3分子反応のそれぞれの事例を研究し、分子数の決め方をのべた。反応の副作用や擾乱も調べ、反応速度の実験法についても工夫を凝らした。

反応速度への温度の影響の関係式は有名であり、化学平衡への温度の影響の式はファント・ホフの等容曲線と呼ばれる。そこから温度上昇は吸熱反応をひきおこし、温度降下は発熱反応をひきおこすという「動的平衡の原理」も導き出した。グルドベルクとヴァーゲの質量作用則は知られていなかったもので、それとは独立に質量作用の法則を導出し、反応速度における濃度の重要性を示した。

この本はファント・ホフの研究スタイルを典型的に示している。かれの実験研究の産出量はわずかなものである。わずかな、しかし周到に考え、見事に実行された、決定的な実験から、

数多くの重要な基本的結論を出した。アムステルダム大学教授に就任して6年後の出版である。出版前の3年間は何も発表せず、研究成果をこの本のために貯えた。助手も学生も少数しかおらず、しかも過重な教育の義務を果たしながらである。アムステルダム大学にいた18年間にファント・ホフが研究を指導した学生は39人である。毎年、学生は1人か2人だった。『化学動力学の研究』が出た年には4人になった。大実験室をもち、多数の学生を指導した有名な有機化学者とは全く趣を異にした。この本は多くの数式を誘導なしに使っているのも、これを読んで、啓示と当惑の交錯した感じをもったという化学者もいる。この本についてアレニウスが書いたスウェーデン語の書評をファント・ホフ夫人が辞書を引きながら訳して聞かせたのが、両者の文通の始まりとなった。

ファント・ホフの物理化学的研究のうちでも重要なのが希薄溶液理論である。大学の同僚の植物生理学者ド・フリースから、プエッファーがフェロシアン化銅の半透膜を作って砂糖溶液の浸透圧を測定した研究を聞いたとき、即座に浸透圧という植物学の問題が、希薄溶液理論という化学の重要問題でもあることに気づいた。半透膜によって溶質の濃度変化の可逆過程をつくり、熱力学の第二法則を適用できると悟ったのである。

浸透圧は、ボイルの法則、ゲーリュサックの法則、アヴォガドロの法則に従うことが分かり、気体と希薄溶液の溶質との完全なアナロジーに達した。そこで浸透圧についても気体の状態方程式のように $PV = kT$ と表すことができた。ファント・ホフは計算してみても、 k が気体定数 R と一致することを知って驚いた。溶質の濃度を極限まで下げた希薄溶液、「理想溶液」、を考えることによって溶液理論を導き出したのである。ファント・ホフはラウールの、氷点降下から分子量を出す経験的方

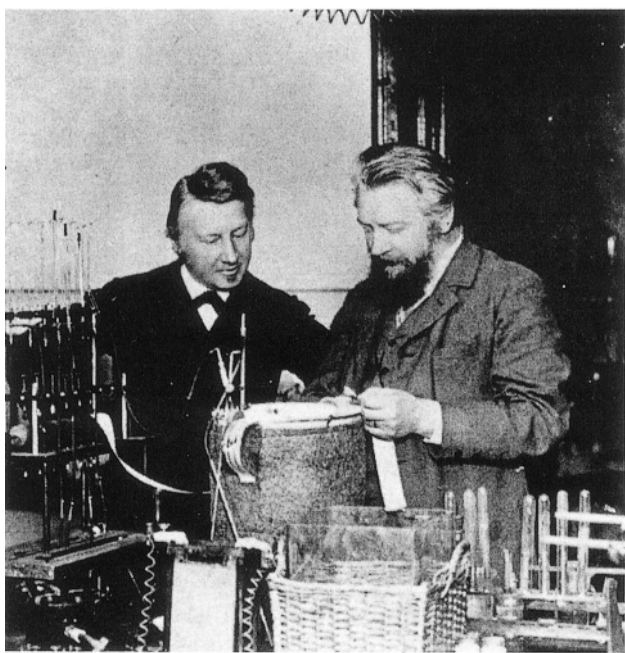


図5. オストヴァルト(右)とファント・ホフ。

法も熱力学的に導いて、それを正当化した。しかし砂糖溶液のように有機溶液では上式に従うが、大部分の無機溶液は従わない。そこで溶液の一般式を $PV = ikT$ と表した。無機溶液では i は1より大となる。これはアレニウスが提出していた電離理論(第3回ノーベル化学賞受賞)によって説明できた。2人の研究者によって別々に研究された二つの理論は、ここに関連付けられて互いを強化した。

1887年、オストヴァルトはファント・ホフ(図5)を名目上の共同編集者として『物理化学雑誌』を創刊した。同年、ライプチヒ大学の、ドイツで唯一の物理化学教授(1881年新設、初代は物理学者ヴィーデマン)に就任した。主導者・組織者オストヴァルトの教授就任と専門誌創刊のこの年が、物理化学の誕生の年といえよう。

創刊号にはその先駆的研究者、ファント・ホフとアレニウスの論文が掲載された。それまであまり読まれないオランダとスウェーデンの学術雑誌で発表されたファント・ホフの希薄溶液の研究は、始めて世界に知られた。

栄光の晩年:ベルリン時代

1890年ごろ、まだ40歳にもならないのにファント・ホフの研究活動は終わった。「固溶体について」(1890)が化学に新しい概念を導入した最後の論文である。それ以後、独創的な研究はない。立体化学、熱力学、反応速度論、溶液理論に革新的な貢献をした後、新しいアイデアは出尽くした。権威あるベルリン大学の特権的な地位に迎えられたのは、その後である(1896年)。義務は週1度の講義だけだった。研究は、シュタッスフルトの海塩沈堆坑を、アムステルダム時代からのドイツ人門下生マイヤー・ホーフを協力者としてギッブスの相律の見地からおこなった。1901年12月、反応速度論と溶液の浸透圧の諸法則の発見に対して、設立早々の第1回ノーベル化学賞を受賞した(図1)。1906年のマイヤー・ホーフの死は大きな痛手となり、かれ自身も病気になった。肺結核だった。1911年、死去。

静かな、気取らない人だった。教

授が寡黙だったので、研究室は静まりかえっていた、と門下生は語る。容易にもものに動じないので、いらいらしたところを見たものはなく、まして怒ったことはない。謙遜な性格で、研究の先取権論争に巻き込まれたこともない。

新しい化合物の発見に汲々としていた有機化学者たちとは異なり、ファント・ホフはオストヴァルトのいう「物質なき化学」(Chemie ohne Stoffe)を追求して、新しい分野を切り開いた。

アムステルダム大学の教授就任講演(1878)「科学における想像力の役割」では、かれ自身による200人余りの有名科学者の伝記の統計的研究を踏まえ、優れた科学者には芸術的才能を併せもつものが多いこと、また精神を病んだ人に近い行動をしたものが多いことを指摘し、科学研究には想像力が必要であると力説した。アイデアを重視した人、考える人だった。独創性を発揮したのは22~34歳までの間だった。

【参考文献】

J. Walker, "Van't Hoff Memorial Lecture," *J. Chem. Soc.*, 103 (1913), 1127~1143; H. A. M. Snelder, "J. H. van't Hoff's Research School in Amsterdam," *Janus*, 71 (1984), 1~30; H. A. M. Snelders, "The Birth of Stereochemistry: an analysis of the 1874 papers of J. H. van't Hoff and J. A. Le Bel," *Janus*, 60 (1973), 261~278; H. A. M. Snelders, "Reception of J. H. van't Hoff's Theory of the Asymmetric Carbon Atom," *J. Chem. Edu.*, 51 (1974), 2~7; K. J. Laidler, "Chemical Kinetics and the Origins of Physical Chemistry," *Archive for History of Exact Sciences*, 32 (1985), 43~75; H. S. Van Klooster, "Van't Hoff on Retrospect," *J. Chem. Edu.*, 29 (1952), 379~382.

アルツハイマー病の研究に...

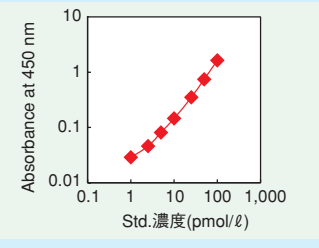
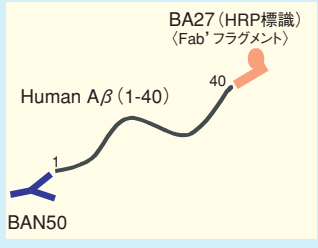
βアミロイドELISAキットクー (4種類)

本品は、アルツハイマー病との相関が指摘されているアミロイドβプロテイン(1-40)及びアミロイドβプロテイン(1-42)を高感度に測定するELISAキットです。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を用いることにより、組織抽出液、培養上清、脳脊髄液だけでなく、従来では測定が困難であった血漿中のAβ40及びAβ42も高感度に測定できます。



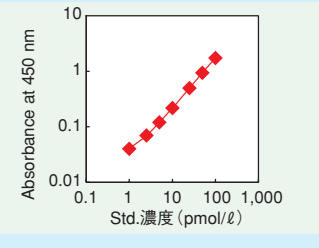
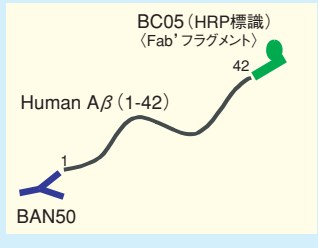
キット種類

●ヒトβアミロイド(1-40) ELISAキットクー (292-62301)
ヒトAβ(1-40)を定量するキット



Standard (pmol/ℓ)	Mean (OD at 450nm)
0	0.017
1	0.029
2.5	0.046
5	0.081
10	0.146
25	0.353
50	0.746
100	1.631

●ヒトβアミロイド(1-42) ELISAキットクー (298-62401)
ヒトAβ(1-42)を定量するキット

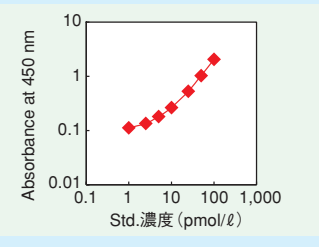
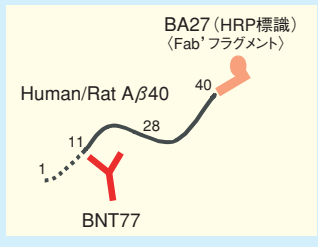


Standard (pmol/ℓ)	Mean (OD at 450nm)
0	0.021
1	0.040
2.5	0.070
5	0.120
10	0.218
25	0.498
50	0.936
100	1.739

特長

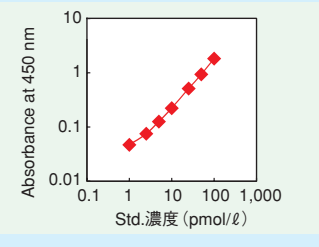
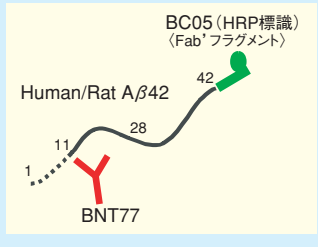
- 組織抽出液、培養上清、脳脊髄液だけでなく、従来では測定が困難であった血漿中のAβ40及びAβ42を高感度に測定できる
- 武田薬品工業(株)で開発された非常に特異性の高いモノクローナル抗体を使用
 - ・BAN50:AβペプチドN末端特異的
 - ・BNT77:Aβ11-28特異的
 - ・BA27:Aβ40 C末端特異的
 - ・BC05:Aβ42 C末端特異的

●ヒト/ラットβアミロイド(40) ELISAキットクー (294-62501)
ヒト、ラットなどの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



Standard (pmol/ℓ)	Mean (OD at 450nm)
0	0.095
1	0.112
2.5	0.136
5	0.181
10	0.265
25	0.529
50	1.034
100	2.060

●ヒト/ラットβアミロイド(42) ELISAキットクー (290-62601)
ヒト、ラットなどの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



Standard (pmol/ℓ)	Mean (OD at 450nm)
0	0.026
1	0.047
2.5	0.075
5	0.125
10	0.221
25	0.507
50	0.928
100	1.807

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
292-62301	Human βAmyloid (1-40) ELISA Kit Wako	免疫化学用	96回用	78,000
298-62401	Human βAmyloid (1-42) ELISA Kit Wako	免疫化学用	96回用	78,000
294-62501	Human/Rat βAmyloid (40) ELISA Kit Wako	免疫化学用	96回用	78,000
290-62601	Human/Rat βAmyloid (42) ELISA Kit Wako	免疫化学用	96回用	78,000

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用など他の用途には用いられません。

記載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.4
2005年10月15日 発行
発行責任者 松田知憲
編集責任者 鱈部梢子
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