

control

 Δ^{12} -PGJ₂

rosiglitazone

〔総説〕

- 「 Δ^{12} -PGJ₂の有機合成と生化学」 今井 剛、小林雄一 …… 2
- 「抗 GFP 抗体による生細胞をベースにした形態や分子レベルの詳細な解析への展開」 三谷昌平 …… 5
- 「抗 mKIAA ウサギポリクローナル抗体の網羅的作製と蛋白質レベルでの発現解析への展開」 古閑比佐志 …… 8
- 〈Talking of LAL〉「第 64 話 リムルス試薬は無菌製剤か」 土谷正和 …… 11
- 〈テクニカルレポート〉「Wakopak® Wakosil-II 5SIL-AQ を用いた動物用医薬品チアムリン、ロベニジンの分析」 吉田貴三子 …… 12

〔化学大家〕

- 「眞島利行」 芝 哲夫 …… 29

〔製品紹介〕

有機合成

- 脱水縮合触媒 …… 13
- ハーフ缶溶媒 …… 14

環境・分析

- ワコーパック® ワコーシル AS-Aqua、専用溶離液 …… 14
- 日本薬局方適合 生薬有効成分 (標品) …… 15
- ポジティブリスト対応 農薬混合液 …… 16
- ポジティブリスト 動物用医薬品標準品 …… 17

細胞生物・生化学

- プロスタグランジン J₂ 誘導体 …… 4
- ポリアクリルアミドゲル「スーパーセップ™」 …… 19
- チオール/セレノール蛍光プローブ「BES-Thio」 …… 20
- スーパーオキシド蛍光プローブ「BES-So」 …… 20
- 細胞外マトリックス …… 24
- 細胞培養用 液体培地 …… 32

免疫・病理

- 抗 GFP, モノクローナル抗体 …… 7
- 財かずさ DNA 研究所 抗 mKIAA ポリクローナル抗体 …… 10
- 組織固定用「PLP 溶液セット」 …… 18
- βアミロイド ELISA キットワコー, 高感度品 …… 22
- βアミロイド ELISA キットワコー II …… 23
- 抗ヒト AGO2, モノクローナル抗体 …… 24

遺伝子

- Evrogen 社 pTurboRFP ベクター …… 25
- Human Genetic Signatures 社
MethylEasy™ DNA 亜硫酸水素塩修飾キット …… 26
- 株ニッポンジーン DAp GoldStar® DNA ポリメラーゼ …… 27
- DsDD cDNA サブトラクションキットワコー
発現コピー数の著しく少ない遺伝子の濃縮 (Data) …… 28

機器

- ACEA 社 リアルタイム細胞計測システム「RT-CES™」 …… 21

〔お知らせ〕

- 病理組織包埋用「パソプレップ® 568」新容器のご案内 …… 18
- 第 5 回和光純薬・日本製薬微生物試験セミナー開催のお知らせ …… 27

1 PG について

プロスタグランジン (PG) はもともと精漿で発見された。しかし、現在では殆ど全ての哺乳類の組織に生成・存在し、局所ホルモンとして作用していることが知られている¹⁾。

PG並びにプロスタサイクリン、トロンボキサン、リボキシン、ロイコトリエン、及びこれら関連物質の前駆物質は必須脂肪酸であり、健康を維持していく上に不可欠である。これら物質はエイコノサイドと呼ばれ、20 (エイコサ) 炭素の多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸からできることを反映している。アラキドン酸はシクロオキシゲナーゼによりPGH₂に変換される。その後異なる酵素により3種類の物質に変換される。1つ目はPGI₂ (プロスタサイクリン) である。2つ目はチトクロームP 450モノオキシゲナーゼによりトロンボキサンA₂を経由して産生されるトロンボキサンB₂。3つ目はPGE₂、PGF_{2α}、PGD₂群である。PGD₂はその後、脱水と二重結合の異性化を起こし、 Δ^{12} -PGJ₂や15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂に変換される (図1)。

2 Δ^{12} -PGJ₂ の受容体

Δ^{12} -PGJ₂類 (1, 2) はPPAR γ のリガンドであることが報告されている²⁾。即ち、PGJ₂の生物学的活性はPPAR γ の機能を解析することにより、いくつ

かは明らかになると考えられている。PPAR γ は peroxisome proliferators-activated receptor gamma の略であり、核内受容体ファミリーの一員である。核内受容体はリガンド依存的転写因子群であり、同リガンドは種々の脂溶性ホルモンである。ヒトでは48種類の核内受容体が知られている。核内受容体をターゲットにした薬剤は多く、世界の薬剤売り上げの約1割が核内受容体であると考えられている。例えば、抗炎症作用のグルココルチコイド、抗骨粗鬆症の女性ホルモン、抗糖尿病のPPAR γ のリガンド等である。よって、PPAR γ は極めて注目される核内受容体であり、その作用は数多く解析されてきている。主に生化学的、分子細胞化学的な解析によりその転写活性化の機構が解明されてきている。特に同じ核内受容体ファミリーの一員であるRXRとヘテロ2量体を形成し、ターゲット遺伝子の転写を制御することが知られている。また、いわゆるノックアウトマウスの解析から生体内での機能も明らかになりつつある。特に抗糖尿病薬としての脂肪細胞でのPPAR γ の機能解析はマウス及び培養細胞にて世界中で数多く行われている。即ち、PPAR γ 転写活性化誘導活性及び脂肪細胞分化誘導活性である。

3 Δ^{12} -PGJ₂ の化学合成

こうした背景から、我々は Δ^{12} -PGJ₂ やそれに類似した化合物の合成法を確

立することでこの分野に貢献できると考えた。

ひとつの合成法としてエノンへの1,4-付加とアルドール反応を組み合わせる方法が考えられる。しかし、1,4-付加させる (2Z)-アルケニルアニオンはアリルアニオンの一種であり、これをシスの立体化学を保持したまま、しかも1位で反応させることは難しい (スキーム1参照)。このような理由から、我々は (2Z)-アルケニル側鎖をあらかじめ組み込んだシクロペンテンのアルドール反応をキーステップとする合成法を開発した⁴⁾ (スキーム2)。最初のステップは光学活性なシクロペンテン・ジオールのモノアセテート誘導体とマロン酸ジメチルとのパラジウム触媒アリル化反応。この種のアリル化反応では通常NaHを用いてマロン酸エステル・アニオンを調製するが、収率は50%前後であり、悪いことにグラムスケールになるとさらに収率が低下した。しかし、*t*-BuOKやLDAを使うとほぼ定量的かつ立体・位置選択的に目的化合物を得ることができた。

こうして合成した化合物のエステル部位を手がかりにしてシス二重結合を構築して1つめの側鎖導入を完成した。一方、Corey-Fuchs反応を活用してアセチレン側鎖をもつ中間体も合成した。アセチレン部位はトリチウムラベル体の合成に活用できる。詳細は原論文を参照のこと⁴⁾。

こうして合成したエノンと2つ目の側鎖相当のアルデヒドとのアルドール反応は-78℃にてスムーズに進行し、アルドール付加物をanti/syn = 2 ~ 3 : 1の立体異性体混合物として与えた。通常、アルドール付加物の脱水はメシレートを経由して行うが、この場合、anti異性体 (アルドール主生成物)

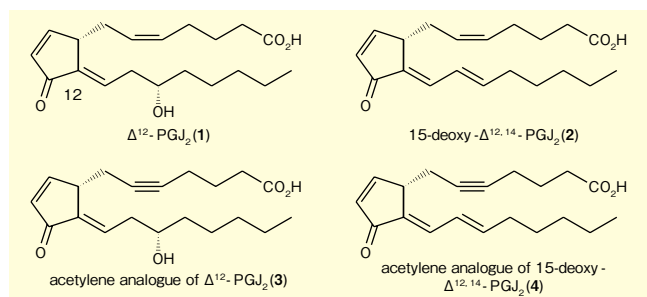
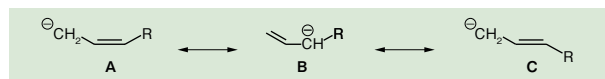
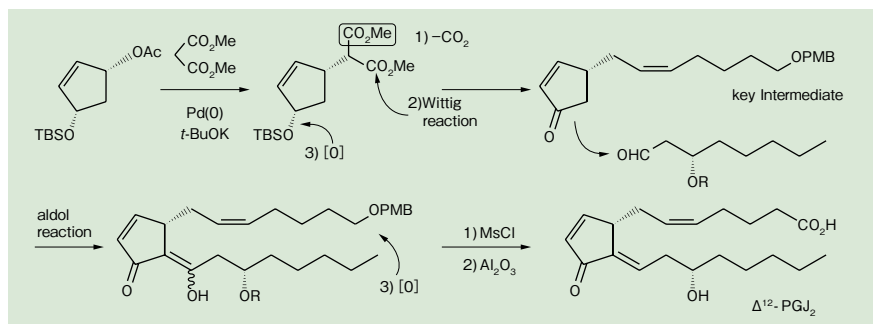


図1. Δ^{12} -PGJ₂ と関連化合物



スキーム1. アリルアニオンAの共鳴状態



スキーム 2. Δ^{12} -PGJ₂ の合成

からのメシルオキシ基の anti E 2 脱離は立体的に不利な (*Z*)-オレフィンを与えるため、ほとんど進行しなかった。幸い、東大院・薬の柴崎らの論文⁵⁾を参考にしてアルミナを用いると、メシルオキシ基の脱離がスムーズに進行し、どちらのアルドール立体異性体からも (*E*)-オレフィンを立体選択的に与えた。ただし、アルミナは ICN 社の Alumina N-Super I を用いる必要があった。同様にしてアセチレンアナログ **3** も合成した。

上述した結果と異なり、 α, β -不飽和アルデヒドを用いて合成したアルドール付加物の場合、メシル化の条件下 (MsCl, Et₃N) で脱メシルオキシ化が進行した。この場合、低温 (-15°C) にするだけで (*E*)-オレフィン選択性が向上し (12~14 : 1)、15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ (**2**) やそのアセチレンアナログ **4** を効率よく与えた。

ところで、15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ の 14, 15 位の二重結合は *cis* であるといわれてきたが、正しくは図 1 に示した様に *trans* である。2000 年、Cayman の Maxey らが PGD₂ を塩基で処理して 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ を合成し、その際、300 MHz の NMR 測定を行い 14, 15 位の二重結合を *cis* に決定したことに端を発している⁶⁾。最近になって (2004 年)、Pittsburgh 大学の Brummond らは 14, 15 位が *trans* の 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ をラセミ体として合成し、ついでに Cayman から入手した同名の化合物も 600 MHz の NMR

測定し、*trans* であると結論づけている⁷⁾。

4 Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体の PPAR γ 転写活性化能及び脂肪分化能について

野生型を含めた 4 種類の Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体の生物学的活性を検討した⁸⁾。

① PPAR γ 転写活性化能について

培養細胞株 C2C12 に PPAR γ (と RXR) の発現ベクター及びそのエフェクターであるレポーター遺伝子 (ルシフェラーゼ) を導入し、同細胞株を非処理、Rosiglitazone、及び PGJ₂ 誘導体にて処理した。その後、細胞を回収して、細胞内のルシフェラーゼ活性を

測定した (図 2)。その結果、他の高親和性 PPAR γ リガンドとして知られる Rosiglitazone はコントロールに比べて約 5 倍の転写活性化能が見られた。一方、4 種類の Δ^{12} -PGJ₂ に関しては多少のばらつきは見られるが、弱い転写活性化能が見られた。

② 脂肪分化能について

脂肪分化能の検定に最も使用される 3T3-L1 細胞株は通常繊維芽細胞である (脂肪細胞ではない)。培養皿にて継代をおこない、培養皿いっぱい (コンフルエント) の状態で、刺激 (インスリン、IBMX、デキサメサゾン) 及び Rosiglitazone ないし Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体を加えて更に培養を行った。すると脂肪細胞に分化をはじめ、中性脂肪を取り込み、脂肪細胞となった。脂肪細胞マーカー遺伝子発現や、実際の脂肪の取り込みを測定した結果を図 3 に示す。赤いものは脂肪の取り込みを表すもので、オイルレッド染色を行った。非処理に比して刺激を与えたものは全て顕著に赤色を有することから、刺激により脂肪細胞に分化したことがわかる。更には図 2 と同様 Rosiglitazone は極めて高い脂肪細胞分化誘導活性を持つことがわかる。4 種の Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体処理群は全て、非処理に比べ

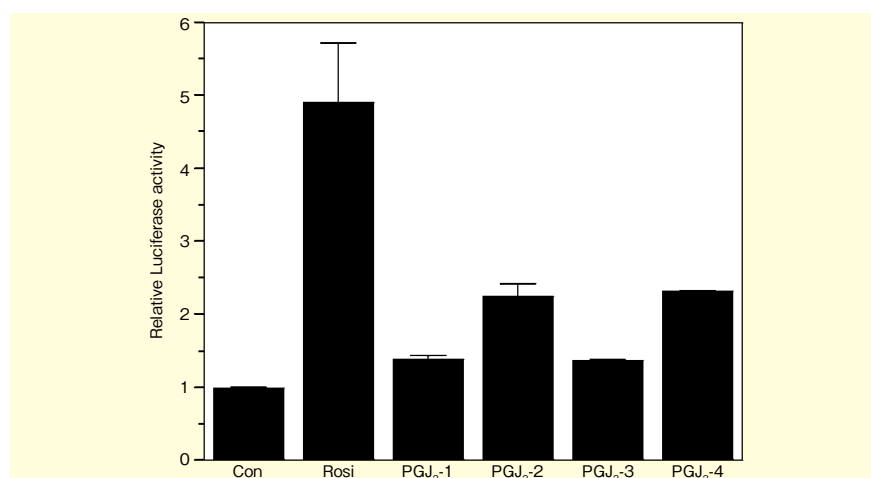


図 2. Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体の PPAR γ 転写活性化能

C2C12 細胞株に PPAR γ 発現ベクター、PPAR γ 転写活性化レポーターベクター等を導入した。その後、非刺激、Rosiglitazone および 4 種の PGJ₂ 関連物質刺激を加え、PPAR γ 転写活性化能を測定した。

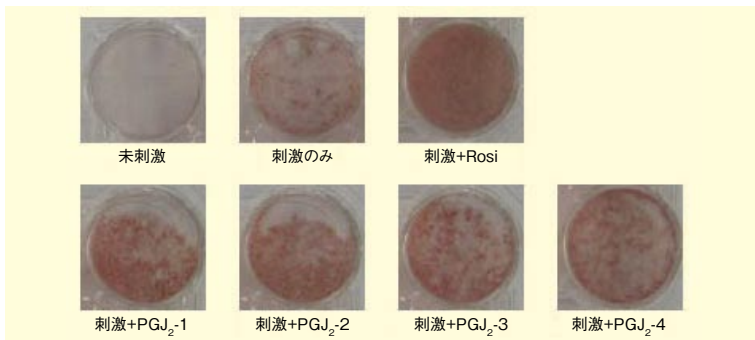


図3. Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体の脂肪分化能

3T3-L1 細胞株を培養後、刺激を加え脂肪細胞へと分化を誘導した。その際 Rosiglitazone, Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体に加え、脂肪細胞分化誘導活性について検討した。脂肪分化解析方法として細胞をオイルレッド染色を行った。脂肪細胞は赤く染まっている。

ば高く、しかし Rosiglitazone 処理に比べれば低い。よって、脂肪細胞分化活性化能に関しても上記同様の結果が得られた。

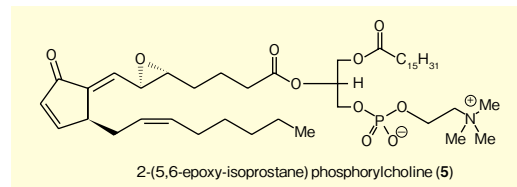
スキーム2の方法を活用すると、 Δ^{12} -PGJ₂ 誘導体に限らず、ジエノン骨格をもつ化合物を容易に合成できる。例えば、血管内壁アテローム部位から単離された⁹⁾ 5,6-epoxyisoprostane を含む phosphorylcholine (5) や Δ^7 -PGA₁ メチルエステル等はこの方法を使って実際合成されている^{10,11)}。

今後、ここで紹介した合成方法を活用してこの分野の研究がさらに発展することを願っている。

【参考文献】

1) a) Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P.

A. and Rodwell, V. W.: "Harper's Biochemistry 25th edition", Appleton & Lange (2000).
 b) 星猛、佐藤昭夫、林秀生、熊田衛、菅野富夫、佐藤俊英、中村嘉男訳:「医科生理学展望」(丸善).
 2) 総説: a) Bishop-Bailey, D. and Wray, J.: *Prostaglandins other Lipid Mediat.*, **71**, 1-22 (2003). b) Straus, D. S. and Glass, C. K.: *Med. Res. Rev.*, **21**, 185-210(2001). c) Dassault, I. and Forman, B. M.: *Prostaglandins other Lipid Mediat.*, **62**, 1-13(2000).
 3) a) Tontonoz, P., Hu, E. and Spiegelman, B. M.: *Cell*, **79**, 1147-1156(1994). b) Forman, B. M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B. M. and Evans, R. M.: *Cell*, **83**, 803-812 (1995). c) Kliewer, S. A., Lenhard, J. M., Wilson, T. M., Patel, I., Morris, D. C. and Lehmann, J. M.: *Cell*, **83**, 813-819(1995). d) Clay, C. E., Namen, A. M., Fonteh, A. N., Atsumi, G., High, K. P. and Chilton, F. H.: *Prostaglandins and other Lipid Mediat.*, **62**,



23-32(2000). e) Sauer, R. T.: *Nature*, **347**, 514-515(1990).
 4) Acharya, H. P. and Kobayashi, Y.: *Tetrahedron*, **62**, 3329-3343(2006).
 5) Yamada, K., Arai, T., Sasai, H. and Shibasaki, M.: *J. Org. Chem.*, **63**, 3666-3672(1998).
 6) Maxey, K. M., Hessler, E., MacDonald, J. and Hitchingham, L.: *Prostaglandins other Lipid Mediat.*, **62**, 15-21(2000).
 7) Brummond, K. M., Sill, P. C. and Chen, H.: *Org. Lett.*, **6**, 149-152(2004).
 8) Imai, T.: *Keio Journal of Medicine*, **52**, 198-203(2003).
 9) a) Watson, A. D., Subbanagounder, G., Welsbie, D. S., Faull, K. F., Navab, M., Jung, M. E., Fogelman, A. M. and Berliner, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **274**, 24787-24798(1999). b) Subbanagounder, G., Wong, J. W., Lee, H., Faull, K. F., Miller, E., Witztum, J. L. and Berliner, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **277**, 7271-7281(2002).
 10) a) Acharya, H. P. and Kobayashi, Y.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 3481-3484(2005). b) Acharya, H. P. and Kobayashi, Y.: *Tetrahedron Lett.*, **46**, 8435-8438(2005).
 11) Kobayashi, Y., Muruges, M. G., Nakano, M., Takahisa, E., Usmani, S. B. and Aina, T.: *J. Org. Chem.*, **67**, 7110-7123(2002).

プロスタグランジンJ₂誘導体

新発売

Wako

プロスタグランジン (PG) は、アラキドン酸のようなエイコサポリエン酸からシクロオキシゲナーゼ (COX) の作用により動物組織で合成される一群の生理活性物質です。細胞内情報伝達機構や生理調整機能に参与するメディエーターとして注目されています。

なかでもプロスタグランジンJ₂ (PGJ₂) 類は、①抗炎症作用や抗腫瘍作用などを有すること、②PPAR γ などの核内レセプターのリガンドとして作用すること、③タンパク質中のシステイン残基と共有結合して標的タンパク質の機能を制御することなどが報告されています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
047-29691	0.01mol/ℓ 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J ₂ Ethanol Solution	細胞生物学用	1mg	12,000
040-29701	0.01mol/ℓ 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J ₂ , Acetylene Analog Ethanol Solution	細胞生物学用	500 μ g	15,000
047-29711	0.01mol/ℓ 15-Deoxy- Δ^{12} -prostaglandin J ₂ Ethanol Solution	細胞生物学用	500 μ g	15,000
167-22201	0.01mol/ℓ Δ^{12} -Prostaglandin J ₂ Ethanol Solution	細胞生物学用	500 μ g	15,000
162-22251	0.01mol/ℓ Δ^{12} -Prostaglandin J ₂ , Acetylene Analog Ethanol Solution	細胞生物学用	500 μ g	15,000

GFP (Green Fluorescent Protein) を初めとする蛍光蛋白質を用いた「生細胞での分子局在解析法」は、PCR (Polymerase Chain Reaction) と同様に、20世紀終盤で開発され、短期間に多くの研究者に使用されるようになった代表的な分子・細胞生物学における技術である。細胞や個体レベルの研究において、いろいろな分子の局在や動きを見たいという要求は従来から高かったのだが、GFPはそのような実験を有効に遂行できるツールであった。GFPが世に出るまでは、分子の局在を調べるための手法としては、抗体染色、*in situ*ハイブリダイゼーションや他のレポーターを用いる方法などしか使用できなかった¹⁻³⁾。

筆者は、GFPが世に出現する少し前、ニューヨーク・コロンビア大学のChalfie研究室で、線虫*C. elegans*を材料にして、whole mount *in situ*ハイブリダイゼーション法を開発し、*mec-7*というβチューブリンの発現をマーカーとして遺伝子発現制御の解析を行っていた。線虫は、クチクラが硬く、その中にある解析対象の組織は柔らかいため、とても難しい実験であった。苦勞して、手技を完成させ、新しいデータがどんどん出るようになった1990年のある日、研究室のセミナーで、私が発表をしていた時に、同じ部屋の仲間指摘されたことがある。「難しい実験でデータを出しても、他の人が同様な手法でデータを出すことが簡単にはできないし、そもそも、基質が必要な実験だと煩雑である。そのものだけで、検出できるレポーターを使用する方が良い。」というような内容であった。当時の私には、途方も無い要求で、不可能であるとしか答えられなかったが、その独創的な発想に対して、研究室内ではおおいに議論された記憶がある。

当時、多用されていたレポーターとしては、βガラクトシダーゼなどがポピュラーであったが、(1)分子量が大き

い(100kDa以上)ため、プラスミドのコンストラクトがそれだけ大きくなる。(2)遺伝子導入した後、発現を調べるために外部からX-galなどの基質を加えて発色させる必要があり、多くの場合、細胞(個体)を固定して、基質液に浸す必要がある。(3)発色反応は酵素反応なので、時間のオーダーのインキュベーションが必要である。などの点が問題点であった。このような点も我々の中では、解決できれば良いと考えられた重要なことであったのだ。私のやっていた*mec-7*遺伝子の*in situ*ハイブリダイゼーションを使った研究の論文の発表を準備していたころ、1つの画期的な論文が出ていた。Green Fluorescent Proteinのクローニングであった⁴⁾。筆者の論文⁵⁾が出た後、Chalfieラボから、GFPを用いたレポーターの論文が発表された。同じ*mec-7*遺伝子を使用して私が答えられなかった問題点をクリアすることができたのである⁶⁾。初期のGFPは今のバリエーションのように明るくは無かったが*mec-7*遺伝子は発現量が高いこともあり、非常にきれいな写真がサイエンス誌の表紙を飾ったこともあり、またたく間に世界中の研究者が使用し始めたことは周知の事実である。

GFPは分子量があまり大きくない可溶分子であるため、単独で発現すると、細胞質が全体的に染色される。GFPを他の分子と融合したり、局在シグナルを加えたりすると、融合相手の分子の性質に依存した局在を示すことが多い。また、融合蛋白質は、両方の蛋白質の機能を保持している場合がしばしばある。線虫を用いた実験では、変異体を使用するケースが多いが、このような状況下では、ゲノムDNAのコード領域にフレームを合わせてGFPを融合して発現させると、発現パターンを知ることができるだけでなく、変異体の表現型を野生型復帰することもできるのである。哺乳類の実験系では、変異体を駆使して機能回

復実験を行うことは難しいが、培養細胞に融合蛋白質を発現した場合でも、例えば、膜受容体機能と蛍光の両方を保持しているなどである。このような場合には、リガンドへの反応性が残っているなどの状況下で使用可能である。

機能と発現を同時に調べるができる場合、GFPをエピトープタグとして使用することが可能になる。すなわち、GFPは生きたままの細胞や個体のままで、機能と局在を調べることができる点がlacZなどの従来のレポーターや、HA、FLAG、mycなどの多用されているエピトープタグとは異なるのである⁷⁾。しかし、ポストゲノム時代の遺伝子機能解析を行う上で、そのような特性を生かすことはもちろん重要であるが、これをさらに、次の情報を得ることに繋げられるならば、研究の進み方は一層速くなると思われる。このような目的のためには、2種類の実験に使えるか否かで、付加価値が違ってくると思われる。すなわち、「生化学的な精製などに使用できるかどうか」および「より詳細な形態学的な観察に発展させられるか」ということである。

生化学的な実験においては、分子の機能(あるいは発現部位)が正しく起こった場合に有用である。生体内の蛋白質の多くは、複数の分子が一緒に働いているケースの方が多い。酵母での大規模実験では、平均12個の蛋白質が複合体となって機能していることが示唆されている⁸⁾。おそらく、他の生物でも、同様の複数の蛋白質が複合体で機能していると思われる。これらの蛋白質の機能を理解するためには、大規模実験だけでなく、個々の生命現象をきちんと再構成した状況で、同様のpull-down実験やMS解析を行うことが望ましい(図1)。そのような際には、上記のように機能や発現を確認した細胞あるいは、個体レベルでのpull-down精製が力を発揮すると思わ

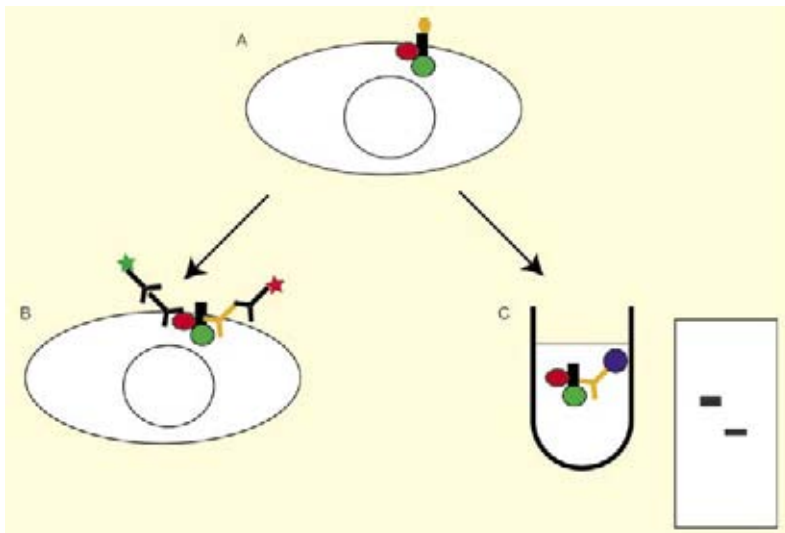


図1. 機能的 GFP 融合蛋白質の発現とその後の実験の流れ

(A) GFP 融合蛋白質 (黒四角と緑色丸) の機能を再構成 (例えば、リガンド (オレンジ) への反応性など) を行う。(B) 抗 GFP 抗体を用いた免疫組織染色による、会合分子との共局在を二重染色で検証する (緑の蛍光分子で)。抗 GFP 抗体 (オレンジ) で、融合蛋白質を検出する。(C) 融合蛋白質の生化学的解析を免疫沈降によって行う。この後、ウェスタンブロットなどの蛋白質解析などができる。

れる。このような実験を行う上で、特異性や親和性の高い抗体を繰り返し使用できる点で、エピトープタグの利点は計り知れない。

形態的な実験の際には、GFP は動的な特性を解析する上で、極めて有用である^{9, 10)}。GFP の利点は、細胞を破壊しない状態でこの観察ができることであるが、一度、生きた状態で機能を

再構成できたならば、融合蛋白質の局在を他の分子との共存の有無などを調べたい場合がある。神経伝達物質などのような小分子の場合には、タグで観察することができない。固定した組織で、セロトニンと GFP の局在を同時に観察できたりすると便利である (図 2)。それ以外でも、GFP タグなどをトランスジェニックなどで同時にたく

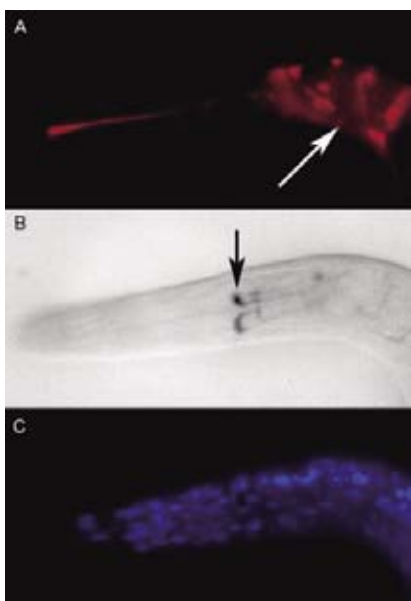


図2. 融合蛋白質と抗セロトニン抗体との二重染色

線虫 unc-18 変異体を unc-18/EGFP 融合遺伝子トランスジェニックで正常復帰させたものを 4% パラフォルムアルデヒド + 1% グルタルアルデヒドで固定後、一次抗体として抗 GFP モノクローナル抗体 mFX73 と抗セロトニンポリクローナル抗体を使用、二次抗体として Cy3 標識抗 mouse 抗体 (A) + ビオチン化抗ウサギ抗体 / ABC complex (B) にて検出した。DAB/蛍光、セロトニン陽性の少数ニューロンと、頭部のたくさんのニューロンの細胞体および突起が染色されている。セロトニンなど小分子神経伝達物質との二重染色には、グルタルアルデヒド固定が必要であるが、本抗体を使用すると、エピトープを認識できるので、良好な染色像が得られる。(C) DAPI を用いた核染色。

さん使うことが難しくても、既存の抗体と併用した局在観察ができると便利である。さらに、高解像度での観察を行う場合には、金コロイドなどと併用できると有用である。抗 GFP 抗体を 1 次抗体として使い、nano-gold 標識抗マウス抗体を 2 次抗体として、さらに、銀増感を加えることにより、微細形態の観察も可能な染色が可能になる (図 3)。

GFP 融合蛋白質が生体のままで機能を確認できた場合に、抗 GFP 抗体を使用することで、さらなる情報を得ることができる。すなわち、従来の手法と組み合わせれば、多くの新規の技術取得や設備投資を行わなくても、分子の機能解析を行うことができるのである。GFP そのものの使用がより広汎に広がれば、広がるほどこの効果は大きくなると期待される。

【参考文献】

- 1) Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. : "Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2nd ed.", Cold Spring Harbor Laboratory (1989).
- 2) Harlow, E. and Lane, D. : "Antibodies. A Laboratory Manual.", Cold Spring Harbor Laboratory (1988).
- 3) Hames, B. D. and Higgins, S. J. : "Nucleic acid hybridization. A practical approach.",



図3. nano-gold 標識二次抗体を用いた免疫組織化学染色

図 2 と同じストレインを用いて、同様に固定し、1 次抗体として抗 GFP mAb mFX73 を 0.1 $\mu\text{g/ml}$ でインキュベートした後、2 次抗体 : nano-gold (1 : 200 希釈) で標識した。検出には、銀増感を用了。ニューロンの細胞体および突起が染色されている。

- IRL Press (1985).
- 4) Prasher, D. C., Eckenrode, V. K., Ward, W. W., Prendergast, F. G. and Cormier, M. J. : "Primary structure of the *Aequorea victoria* green-fluorescent protein.", *Gene*, **111**, 229-233 (1992).
 - 5) Mitani, S., Du, H., Hall, D. H., Driscoll, M. and Chalfie, M. : "Combinatorial control of touch receptor neuron expression in *Caenorhabditis elegans*.", *Development*, **119**, 773-783 (1993).
 - 6) Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W. and Prasher, D. C. : "Green fluorescent protein as a marker for gene expression.", *Science*, **263**, 802-805 (1994).
 - 7) Cheeseman, I. M. and Desai, A. : "A combined approach for the localization and tandem affinity purification of protein complexes from metazoans.", *Sciences's STKE* **2005**, **266**, pl 1 (2005).
 - 8) Gavin, A.-C., BoÈsche, M., Krause, R., Grandi, P., Marzioch, M., Bauer, A., Schultz, J., Rick, J. M., Michon, A.-M., Cruciat, C.-M., Remor, M., Höfert, C., Schelder, M., Brajenovic, M., Ruffner, H., Merino, A., Klein, K., Hudak, M., Dickson, D., Rudi, T., Gnau, V., Bauch, A., Bastuck, S., Huhse, B., Leutwein, C., Heurtier, M.-A., Copley, R. R., Edelman, A., Querfurth, E., Rybin, V., Drewes, G., Raida, M., Bouwmeester, T., Bork, P., Seraphin, B., Kuster, B., Neubauer, G. and Superti-Furga, G. : "Functional organization of the yeast proteome by systematic analysis of protein complexes", *Nature*, **415**, 141-147 (2002).
 - 9) Tanaka, K., Mukae, N., Dewar, H., van Breugel, M., James, E. K., Prescott, A. R., Antony, C. and Tanaka, T. U. : "Molecular mechanisms of kinetochore capture by spindle microtubules.", *Nature*, **434**, 987-994 (2005).
 - 10) Umeda, T., Ebihara, T. and Okabe, S. : "Simultaneous observation of stably associated presynaptic varicosities and postsynaptic spines : morphological alterations of CA3-CA1 synapses in hippocampal slice cultures.", *Mol. Cell Neurosci.*, **28**, 264-274 (2005).

Products



安価で高回収率！免疫沈降・免疫組織化学染色用

抗GFP，モノクローナル抗体

本品は、野生型GFP及び*A. victoria*由来のGFP variantsに特異性を示すモノクローナル抗体で、免疫沈降や免疫組織化学染色に使用できます。

特長

- 高いGFP回収率
- 安価

宿主：mouse

濃度：約1mg/ml (ラベルに記載)

クローンNo.：mFX73

サブクラス：IgG_{2a}・κ

交差性：Evrogen社製のTurbo GFP (カイアシ *Pontellina plumata*由来)、Phi-YFP (コザラクラゲ *Phialidium* sp.由来)、KFP-Red (イソギンチャク *Anemonia sulcata*由来)とは交差性を示さない。

使用量：

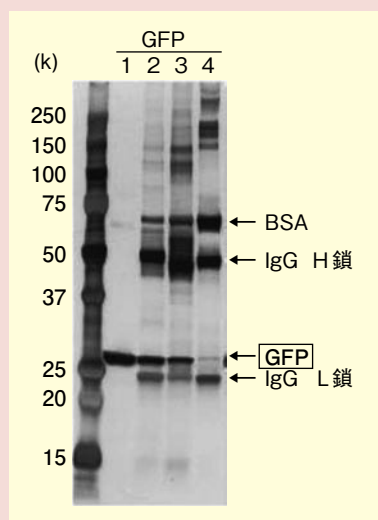
免疫沈降：1～5 μg / 5 μl Sepharose

免疫組織化学染色：0.5～1 μg/ml

※本品は、非変性のタンパク質とは反応しますが、熱、化学的に変性したタンパク質に対しては極めて反応性が低いため、ウエスタンブロットティングには使用できません。

データ

免疫沈降におけるGFPとの結合性



各社抗GFP抗体をプロテインG Sepharoseに固相化し、GFPとの結合性を免疫沈降実験により比較した。

M社、B社と比べ、当社はGFPとの高い結合性を示した。

保存条件

– 20℃・遮光保存

SDS-PAGE 銀染色

サンプル：GFP (0.5 μg / 10 μl) 及び各溶出液 10 μl

ゲル：SuperSep™ 10–20%, 17 well

[コードNo. 195-12991]

検出試薬：銀染色IIキットコー

[コードNo. 291-50301]

Lane 1：GFP

Lane 2：和光 抗GFP抗体固相化担体溶出液

Lane 3：M社 抗GFP抗体固相化担体溶出液

Lane 4：B社 抗GFP抗体固相化担体溶出液

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-20461	Anti Green Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody	遺伝子研究用	100 μl	30,000
018-20463			100 μl × 5	120,000

抗 mKIAA ウサギポリクローナル抗体の網羅的作製と蛋白質レベルでの発現解析への展開

科学技術振興機構 (JST-CREATE)、財団法人 千葉県産業振興センター、財団法人 かずさ DNA 研究所 古閑 比佐志

1 はじめに

遺伝子の全体像の解明を目標としたゲノムプロジェクトの、次なるステップとしての蛋白質レベル或いはDNA-蛋白質複合体レベルでの研究は、緊急かつ必須の課題と考えられる。一方蛋白質自身は、発現量も低くかつ時期・部位特異的な一過性の発現様式を示すものも多く、その全貌を捉えるのはきわめて困難である。特異的に微量分子を捕捉することが可能な抗体などは、このような研究を精力的に推進するため必須の研究ツールと考えられる。この観点から我々は、2001年12月よりヒト cDNA プロジェクトに加えるべくプロジェクトとしてマウス長鎖 cDNA の取得とそれにコードされる蛋白質に対する網羅的抗体作製という試みを開始した。

2 マウス KIAA 相同遺伝子とは

特に大きな蛋白質をコードする遺伝子の研究はその遺伝子取得の困難さ故立ち遅れていたが、かずさDNA研究所ではライブラリーの構築そのものに手を加えることでこの問題を克服し¹⁾、1994年から現在までに2000を越える新規ヒト長鎖cDNA (> 4 kb、研究所の名前を冠しKIAA遺伝子と命名)を解析してきた^{2,3)}。これらKIAA遺伝子にコードされる蛋白質は平均949アミノ酸残基で、1000アミノ酸残基以上のヒト高分子蛋白質に限って言えば、かずさDNA研究所で見出されたものがその約1/3を占めていることになる⁴⁾。ヒト遺伝子産物の解析における、主に倫理的観点からの制約を回避する目的で、我々はあえてマウスKIAA (mKIAA)蛋白質に対する抗体を作製し、後からヒトサンプルとの交差反応を確認するという戦略をとった^{5,6)}。このような戦略をとった

根拠は、マウスは哺乳類モデル生物として最も解析が進んでおり、様々なリソースが利用可能であるとともに、その抗体はヒトとの交差反応が十分期待できるからである。

3 ハイスループットな抗体作製・評価システムの確立

その詳細は文献を参照して頂きたいが、簡単にmKIAA遺伝子の取得から抗体の作製・評価までの工程を説明する。かずさDNA研究所では現在までに約180,000のマウスcDNAクローンに対して5'または3'末端配列解析を行ってきた。この配列情報に対してヒトKIAA遺伝子配列でBLASTサーチを行いBLASTスコア>120以上のものをマウスKIAA相同遺伝子候補として全長配列解析に供した^{7,8)}。BLASTサーチで候補を選択できないものに関しては我々がhybridization技術を利用して新たに開発したクロニング法〔MUCH; Multiplex Cloning of Homologous Genes〕やPCR技術を用いて別途クロニングした⁹⁾。これらの方法を用い現在までにヒトKIAA遺伝子の約90%のマウス相同遺伝子の全長配列解析を終え、公共データベースに登録するとともに配列情報とそれから派生した様々な解析データをROUGE (Rodent Unidentified Gene-Encoded)蛋白質データベース上でも公開している (<http://www.kazusa.or.jp/rouge/>)¹⁰⁾。我々はショットガン法を用いて全長配列解析を行ったが、その際配列解析に用いたショットガン断片 (0.8-1kb)を抗体作製のための抗原蛋白質発現系に相同組み換え技術を用いて直接組み込むことでハイスループットな抗原蛋白質発現システムを確立した¹¹⁾。また各ショットガン断片に対応するアミノ酸領域の抗原性の指標となるパラメーター (親水性、表在性、予測二次構造など)をビジュア

ル化し、抗原として適切な部位を容易に選択できるシステムも構築した¹¹⁾。GST融合蛋白質として大腸菌に発現させた抗原蛋白質はその可溶化度に応じて、glutathione-affinity beadsあるいはgel electro-elutionで精製・回収し、MALDI-TOF-MSによる質量分析でその精製度もチェックした。定法に従い抗原蛋白質でウサギを免疫し、得られた抗血清をELISA・Western blotting・免疫染色法などで、その強度ならびに特異性を評価した⁶⁾。

4 抗 mKIAA 抗体の蛋白質発現解析への利用法

我々は、前記のようにして網羅的に作製した抗体に対して、大きく分けて二つの利用法を考えている。一つは、抗体アレイなどのプラットフォームを構築して、網羅的に蛋白質レベルでの発現解析を行なうという利用法である。これに関して詳細は割愛するが、SPR (Surface Plasmon Resonance Imaging; 表面プラズモン共鳴解析法)を検出系に用いた抗体アレイのプラットフォームを既に完成させている^{12,13)}。また、より高い感度とダイナミックレンジを求めて、現在化学発光系を用いたプラットフォームの構築にも取り組んでいる〔薄井 (青木) 一恵他; 抗体アレイを用いたマウスKIAAタンパク質の発現プロファイリング〜新しい疾患マーカーの発見を目指して〜第28回日本分子生物学会年会 (ワークショップ)〕。

もう一つは、個々の抗体を分子の機能に関する個別研究に用いるという利用法である。KIAA/mKIAA蛋白質のおよそ半分がまだ機能未知の高分子量蛋白質であることから、抗体を用いた生化学的・細胞生物学的解析は、当該蛋白質の新たな機能的側面を明らかにするに違いない。このような個別研究は長期にわたる地道な努力が必要な上、我々研究グループのキャパ

シティーを越えている。そこで、現在は共同研究という形で、我々が抗体やcDNAなどのマテリアルを提供し、大学などの研究機関と共に解析を進めている。この総説を読まれた読者から「ぜひ共同研究を」という問い合わせがくることを期待してやまない。

5 抗 mKIAA 抗体を用いた個別研究の事例

総論の話が続いたので、ここで一つだけ各論的話をしたい。我々は抗体の評価系として、基本的に以下の解析を行なっている：1) マウス組織から抽出した蛋白質を用いたWestern blotting, 2) マウス培養細胞から抽出した蛋白質を用いたWestern blotting, 3) 還流固定脳組織の浮遊法による増強免疫染色法。これらのルーチンの解析に加えて、質量分析装置を用いた免疫沈降産物の解析や、凍結切片によるさらに詳細な組織学的解析も行なっている。図1に示したのは、抗mKIAA0338抗体によるWestern blottingの画像だが、この分子は成体マウス脳で強く発現していることが

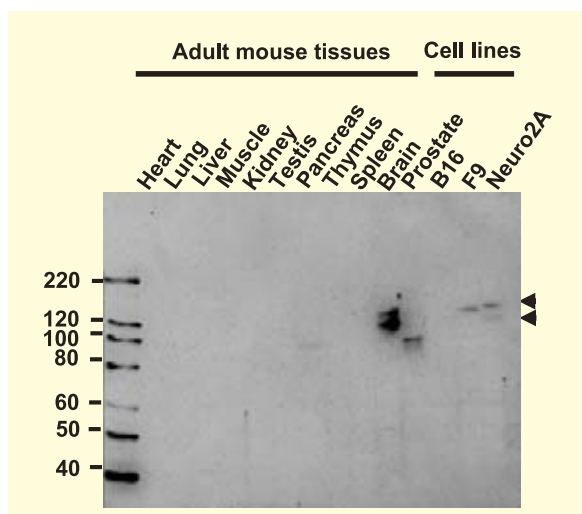


図1. Western blotting による mKIAA0338 蛋白質発現解析
成体マウス各組織由来の蛋白質サンプルとマウス由来培養細胞株から抽出した蛋白質サンプルを泳動後、抗 mKIAA0338 抗体で検出した。予想分子量に近い約 100kDa のバンドが 2 本 (矢印)、脳のサンプルで明瞭に確認できる。

わかる。この分子は別名 erythrocyte protein band 4.1-like 1 (Epb 4.111, GeneID: 13821) と呼ばれ、そのドメイン構造から他の band 4.1 ファミリー同様、膜の裏打ち蛋白質として働いていると考えられている。以前我々の研究所から、ラット脳における相同分子の局在を報告したが¹⁴⁾、この抗体を用いることで成体マウス小脳でも特に granular layer や molecular layer の glomeruli に強く発現していることが明らかとなった (図2)。またこのファミリーは multiple isoforms をとることが知られており、KIAA0338 に関しても以前我々の研究所から mRNA レベルで複数の splice isoforms が存在することを報告した¹⁵⁾。抗 mKIAA0338 抗体を用いた Western blotting では、少なくとも 2 種の splice isoforms が成体マウス脳で優位に発現している可能性を示唆する所見を得た。このことは、この 2 種のバンドを切り出しトリプシン消化後質量分析することで確認している。今後この抗体

を用いた更なる解析が、当該分子の新たな機能解明につながっていくだろう。

6 おわりに

このたび、かずさDNA研究所と(株)プロテイン・エクスプレスが中心になり、我々のプロジェクトで作製したポリクローナル抗体が一部和光純薬から販売の運びとなった。これらの抗体に関しては、Western blotting や免疫染色による蛋白質レベル、あるいはcDNAアレイによる遺伝子レベルでの発現情報が、InGaPデータベースから取得可能である (<http://www.kazusa.or.jp/create/index.jsp>)⁵⁾。KIAA/mKIAA 遺伝子は特に脳での発現が高いことが明らかになっているので、今後抗体のラインナップを増やし、個別研究を行なっている研究者、特に脳研究者に貢献できればと期待している。また我々が構築した KIAA/mKIAA 遺伝子を中心とした

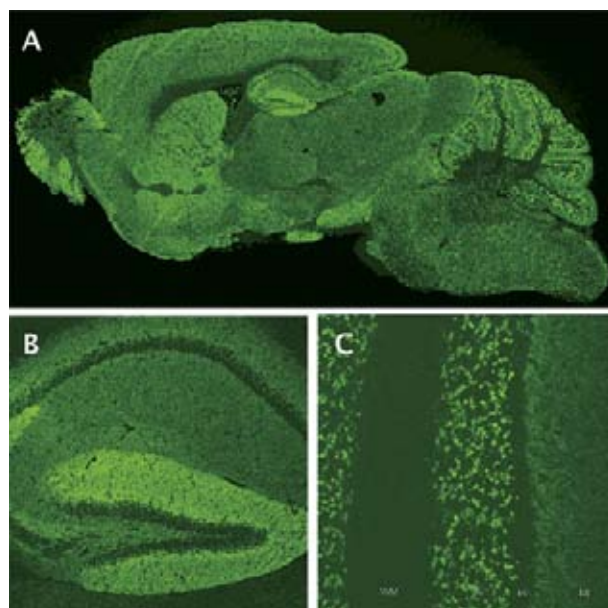


図2. 免疫組織化学による mKIAA0338 蛋白質発現解析
凍結切片を用いた成体マウス脳の免疫組織化学 (小原令子博士撮影)：(A) 矢状断による脳全体像、左側に嗅脳、右側に小脳が見える。(B) 海馬の拡大画像、歯状回が強く染色されている。(C) 小脳の拡大画像、白質 (WM)、Purkinje 細胞層 (PL) が染まらず、顆粒細胞層 (GL) が強く染色されている。

パスウェイデータベース InCeP は、双方向性の情報交換が可能なことを一つの特徴としている。我々の作製した抗体を用い得られた知見を、InCeP データベースを会して還元することで、さらにこの研究フィールドでの情報の共有と活性化が行なわれることを祈念してこの総説を終わりたい。

7 謝 辞

本研究は科学技術振興機構・地域結集型事業 (CREATE) の支援により行われた。また、本稿をまとめるにあたり、当プロジェクトに関わった全ての共同研究先及びかすさ DNA 研究所の職員に感謝致します。

【参考文献】

- Ohara, O. *et al.* : "Construction and characterization of human brain cDNA libraries suitable for analysis of cDNA clones encoding relatively large proteins.", *DNA Res.*, **4**, 53-9 (1997).
- Nagase, T., Kikuno, R. and Ohara, O. : "Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XXII. The complete sequences of 50 new cDNA clones which code for large proteins.", *DNA Res.*, **8**, 319-27 (2001).
- Nomura, N. *et al.* : "Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. I. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0001-KIAA0040) deduced by analysis of randomly sampled cDNA clones from human immature myeloid cell line KG-1.", *DNA Res.*, **1**, 27-35 (1994).
- Ohara, O., Nagase, T., Kikuno, R. and Oishi, M. : "Comprehensive analysis of human large cDNAs which directs the synthesis of large proteins.", *蛋白質核酸酵素*, **47**, 991-6 (2002).
- Koga, H. *et al.* : "A comprehensive approach for establishment of the platform to analyze functions of KIAA proteins II : public release of inaugural version of InGaP database containing gene/protein expression profiles for 127 mouse KIAA genes/proteins.", *DNA Res.*, **11**, 293-304 (2004).
- Koga, H. *et al.* : "A comprehensive approach for establishment of the platform to analyze functions of KIAA proteins: generation and evaluation of anti-mKIAA antibodies.", *Proteomics*, **4**, 1412-6 (2004).
- Okazaki, N. *et al.* : "Prediction of the coding sequences of mouse homologues of KIAA gene : I. The complete nucleotide sequences of 100 mouse KIAA-homologous cDNAs identified by screening of terminal sequences of cDNA clones randomly sampled from size-fractionated libraries.", *DNA Res.*, **9**, 179-88 (2002).
- Okazaki, N. *et al.* : "Influence of the 3'-UTR-length of mKIAA cDNAs and their Sequence Features to the mRNA Expression Level in the Brain.", *DNA Res.*, **12**, 181-9 (2005).
- Ohara, R., Koga, H., Kikuno, R. and Ohara, O. : "Method for systematic targeted isolation of homologous cDNA fragments in a multiplex format.", *Biotechniques*, **36**, 798-800, 802, 804 passim (2004).
- Kikuno, R. *et al.* : "HUGE : a database for human KIAA proteins, a 2004 update integrating HUGEppi and ROUGE.", *Nucleic Acids Res.*, **32** Database issue, D502-4 (2004).
- Hara, Y., Shimada, K., Kohga, H., Ohara, O. and Koga, H. : "High-throughput production of recombinant antigens for mouse KIAA proteins in *Escherichia coli* : computational allocation of possible antigenic regions, and construction of expression plasmids of glutathione-S-transferase-fused antigens by an *in vitro* recombination-assisted method.", *DNA Res.*, **10**, 129-36 (2003).
- Usui-Aoki, K., Shimada, K., Nagano, M., Kawai, M. and Koga, H. : "A novel approach to protein expression profiling using antibody microarrays combined with surface plasmon resonance technology.", *Proteomics*, **5**, 2396-401 (2005).
- Kyo, M., Usui-Aoki, K. and Koga, H. : "Label-free detection of proteins in crude cell lysate with antibody arrays by a surface plasmon resonance imaging technique.", *Anal. Chem.*, **77**, 7115-21 (2005).
- Ohara, R., Yamakawa, H., Nakayama, M., Yuasa, S. and Ohara, O. : "Cellular and subcellular localization of a newly identified member of the protein 4.1 family, brain 4.1, in the cerebellum of adult and postnatally developing rats.", *Brain Res. Dev. Brain Res.*, **117**, 127-38 (1999).
- Yamakawa, H., Ohara, R., Nakajima, D., Nakayama, M. and Ohara, O. : "Molecular characterization of a new member of the protein 4.1 family (brain 4.1) in rat brain.", *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **70**, 197-209 (1999).

Products

ウェスタンブロット・免疫組織化学用 抗 mKIAA ウサギポリクローナル抗体

ヒト長鎖遺伝子に対応するマウス遺伝子から発現させたタンパク質のポリクローナル抗体です。

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
301-31131	MK02020505	Anti mouse KIAA0202 Polyclonal Antibody, rabbit	0.05mg	50,000
308-31141	MK05310505	Anti mouse KIAA0531 Polyclonal Antibody, rabbit	0.05mg	50,000
305-31151	MK12490505	Anti mouse KIAA1249 Polyclonal Antibody, rabbit	0.05mg	50,000
302-31161	MK03380505	Anti mouse KIAA0338 Polyclonal Antibody, rabbit	0.05mg	50,000
306-31181	MK12930505	Anti mouse KIAA1293 Polyclonal Antibody, rabbit	0.05mg	50,000



第64話 リムルス試薬は無菌製剤か

リムルス試薬は、エンドトキシンの測定に使用されています。特に医薬品や医療用具のエンドトキシン試験において、リムルス試薬が活躍しています。リムルス試薬を用いて試験する医薬品及び医療用具の多くは、無菌製品です。今回は、エンドトキシンを測定するリムルス試薬が無菌製剤かどうかを考えてみたいと思います。

「無菌である」ということを証明するのが非常に難しいことは、よく知られています。

「無菌であること」が「無菌試験に合格する」ということではないことはご存知の通りです。無菌試験の検出力が非常に低いことは、微生物の性質を考えればすぐに納得されることでしょう。まず、微生物は固体であり、試料中で不均一に存在するため、サンプリングが難しいことは想像できます。しかも、無菌的に製造された製品中にはもともと微生物が少ないのですから、その一部をサンプリングしたからといって、サンプルの中に微生物が入ってくる可能性は非常に低いことが判ります。しかも、もしうまく微生物をサンプリングできたとしても、無菌試験の条件がその微生物を増殖させる条件に適合しているかどうかは判りませ

ん。

微生物は条件が整えば増殖しますから、少しでも生きて微生物が混入していると、これが増えてくる可能性があります。これも微生物の困った性質で、試験で見逃した生菌が増殖して、いつの間にか製品がだめになるということにもなります。

このようなこともあって、無菌製品を造る上で重要視されているのが、工程のバリデーションです。例えば、湿熱滅菌のバリデーションでは、コールドスポットが必要な温度（例えば121℃）に必要な時間保たれているかどうかを科学的に証明することになります。通常、無菌性の保証レベル(SAL)が 10^{-6} となる条件を目標とします。このように、無菌性の保証には、無菌性を検査する方法ではなく、製造工程において製品が十分な確率で無菌になる条件を採用する方法が取られています。

さて、リムルス試薬は無菌製剤であるかどうか、今回のテーマです。米国では以前、リムルス試薬はワクチンなどの生物製剤と同様に分類されていました。従って、リムルス試薬の品質試験のひとつとして無菌試験を行っているメーカーがほとんどです。しかし、ラベルや添付文書にはリムルス試薬が無菌製剤であるとは書いていません。

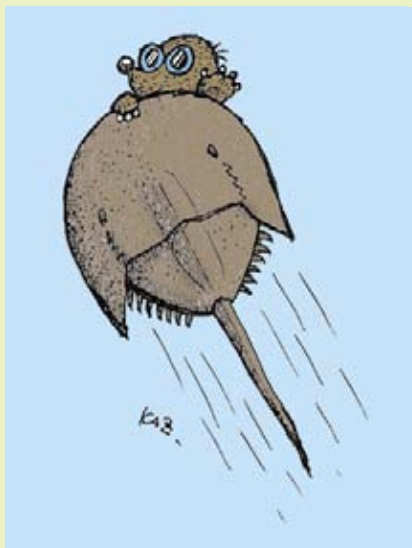
製造の観点から見るとどうでしょうか。リムルス試薬はカプトガニの血球を取るところから、溶血、精製、凍結乾燥などの工程を経て製造されます。この間、無菌的操作を駆使して製造されますが、特に滅菌工程はありません。リムルス試薬は蛋白製剤ですから、加熱はできませんし、エンドトキシンや β -グルカンの汚染の可能性を考えると過などもできれば避けたい工程です。リムルス試薬の製造方法は、カプトガニの血液が無菌であれば、原則として無菌が保たれるような

方法です。しかし、まずカプトガニの血液が無菌かどうかについては、いろいろ議論があるところだと思います。また、無菌的な操作を行っているとはいえ、最終滅菌を行っておらず、検査も無菌試験のみということであれば、「リムルス試薬は無菌である」と断言するのは難しそうです。

もともとリムルス試薬は、単なる検査薬です。注射用の医薬品ではありません。従って、性能に問題がなければ、完全に無菌である必要はありません。しかし、微生物の混入のあるリムルス試薬を製品化することも難しく、グラム陰性菌や真菌の汚染があれば、リムルス試薬はゲル化し、だめになってしまうでしょう。すなわち、リムルス試薬は自己指示薬的な性質を持っており、ゲル化や濁りでエンドトキシンや β -グルカン、さらには微生物の汚染を知らせます。

これらのことを考えると、リムルス試薬は限りなく無菌に近いが、無菌であることを保証することは難しい製剤であるといえるかもしれません。

エンドトキシンや β -グルカンは、耐熱性が強く、その原因菌が死んでも残ります。このことから、エンドトキシン及び β -グルカンの汚染なく製造を行うことは、無菌製造以上に難しいと思われるかもしれません。しかし、生菌が少しでもいると、増殖して思わぬ事故に遭うことがあります。そして、生菌の検出は、エンドトキシンや β -グルカンの検出よりも難しいのではないのでしょうか。いずれにしても、微生物やその成分の汚染を防ぐことは、医薬品や医療用具だけでなく、検査薬の製造においても重要な課題です。



Wakopak® Wakosil-II 5SIL-AQ を用いた動物用医薬品チアムリン、ロベニジンの分析

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 吉田 貴三子

近年、LC/MS分析の普及に伴い、LC/MSへの適合性を保証した溶媒や試薬、分析用カラムが市販されており、分析用カラムには、汎用性の高いODS充てん剤（C18、オクタデシルシリカゲル）が主に使用されている。しかし、このODS充てん剤でも一部の化合物（例えば、薬物と薬物代謝物に代表される高極性物質や塩基性物質）において、溶出力の小さい水系の移動相やイオンペア試薬を使用しても分離が達成されない場合があり、それを補完する目的で、未修飾のシリカゲル

カラムの有用性が提案されてきた。そこで未修飾のシリカゲルカラムの有用性を確認し、高極性物質分析用カラム Wakopak® Wakosil-II 5SIL-AQ の開発を行った（なお、その特長と有用性など詳細は、和光純薬時報2006年 Vol. 74 No. 1を参照）。

今回は、2006年5月29日から施行されたポジティブリスト制において、規制対象となる農薬類、動物用医薬品類の一斉分析条件の検討を進める中で、ODSカラムで良好なピーク形状が得られなかった「チアムリン」と

「ロベニジン」の分析に Wakopak® Wakosil-II 5SIL-AQ を適応し良好な結果が得られた（図1と図2に両化合物の構造とクロマトグラムを示す）。ODSカラムに比べてピーク形状と回収率に大きな改善効果が認められ、またLC/MS分析へ適応可能な移動相条件（アセトニトリルと揮発性酸を使用）で分離が達成できるなどの利点があり、ポジティブリスト関連の分析業務に携わる方々にとって、少しでも参考になれば幸いである。

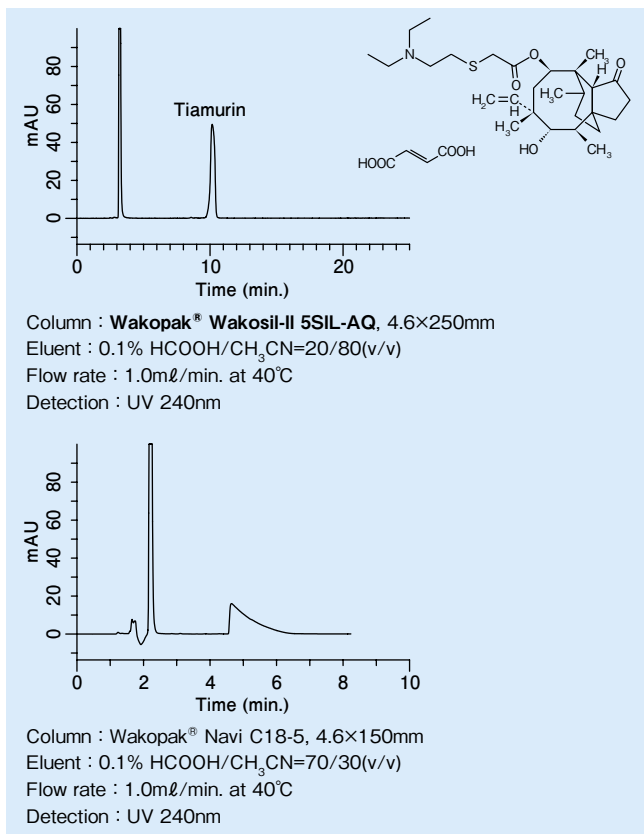


Fig 1. Analysis of Tiamurin Fumarate

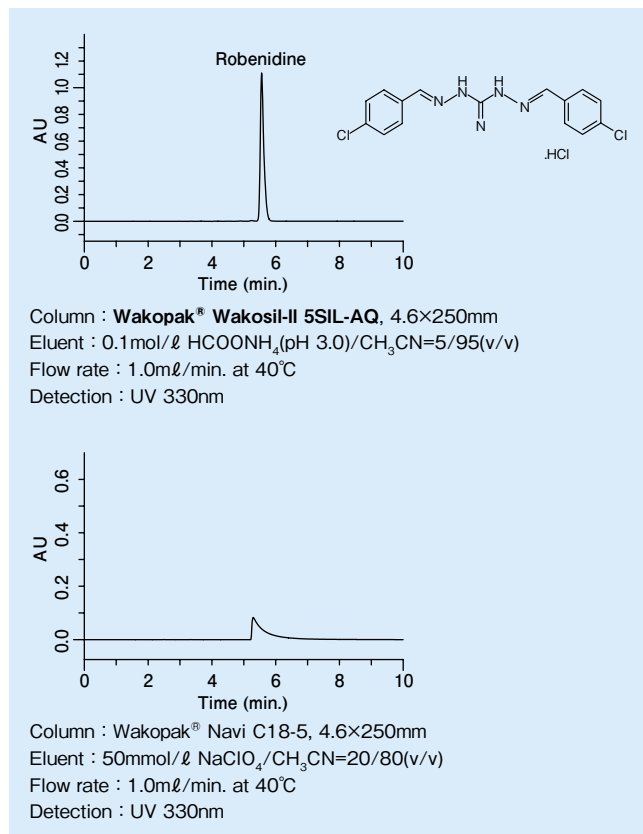


Fig 2. Analysis of Robenidine Hydrochloride



コード No.	品名	カラムサイズ	希望納入価格(円)	
001-00030	Wakopak® Wakosil-II 5SIL-AQ	4.6φ × 150mm	41,000	
		4.6φ × 250mm	44,000	
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-04721	0.1vol% Formic Acid-Acetonitrile	LC/MS 用	1 ℓ	5,700
068-04723			3 ℓ	13,800
214-01301	Ultrapure Water	LC/MS 用	1 ℓ	1,600
210-01303			3 ℓ	3,000

脱水縮合触媒

Wako

N-メチル-4-ピリジンボロン酸=ヨージド

ポリスチレン樹脂固定化 N-メチル-4-ピリジンボロン酸=クロリド

本品は、ピリジン4級塩のボロン酸であり、等量のカルボン酸とアミンの脱水縮合反応でアミド化合物を得ることができます。また、アルコール溶媒中で α -ヒドロキシカルボン酸類のエステル化反応も高収率で進行します。

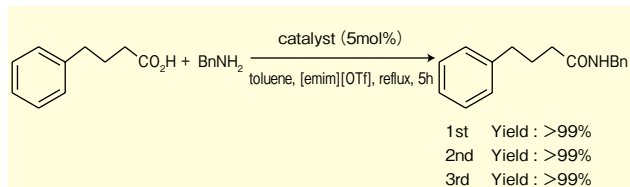
N-メチル-4-ピリジンボロン酸=ヨージド

本品は、イオン性触媒として極性溶媒中でも活性を保持します。イオン性液体を反応溶媒に用いることで、回収・再利用が可能です。

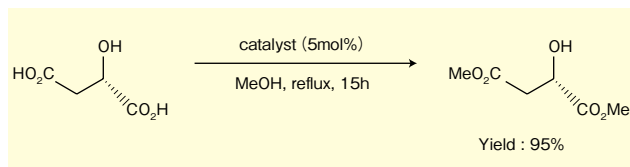
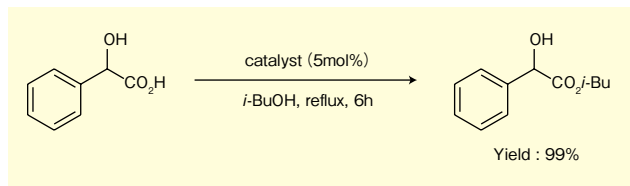
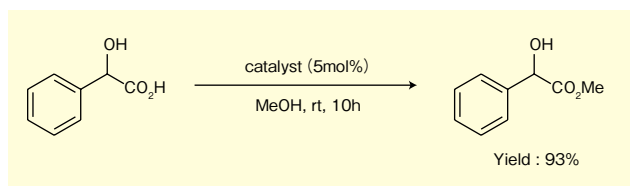


反応例

アミド化反応

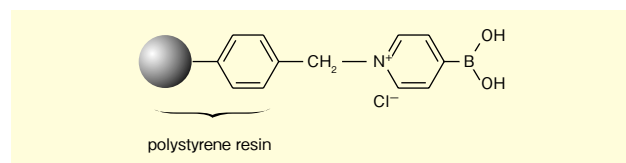


α -ヒドロキシカルボン酸類のエステル化反応



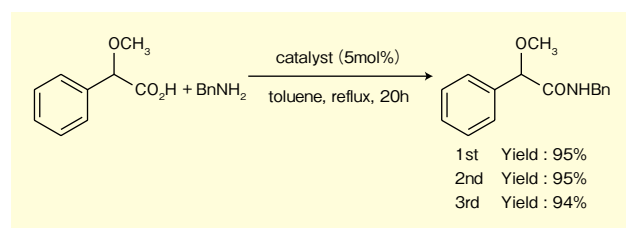
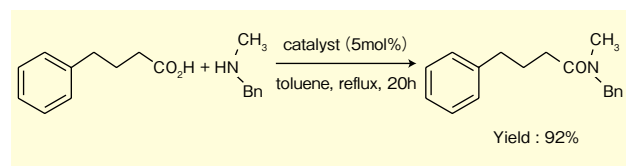
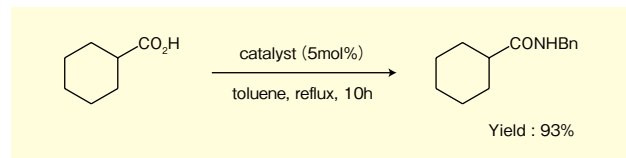
ポリスチレン樹脂固定化 N-メチル-4-ピリジンボロン酸=クロリド

本品は、ポリスチレンに担持した固定化触媒です。反応終了後、ろ過により簡単に回収することができます。

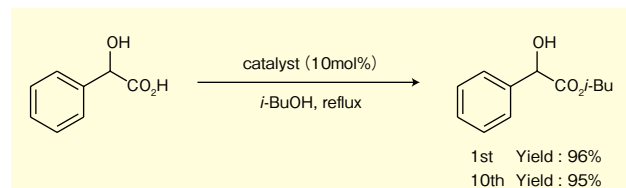


反応例

アミド化反応



α -ヒドロキシカルボン酸類のエステル化反応



【参考文献】

- 1) Ohara, S., Ishihara, K. and Yamamoto, H. : *The 78th Spring Meeting of Chemistry Society of Japan*, 3-B 5-10 (2000).
- 2) Maki, T., Ishihara, K. and Yamamoto, H. : *Org. Lett.*, **7**, 5043 (2005).
- 3) Maki, T., Ishihara, K. and Yamamoto, H. : *Org. Lett.*, **7**, 5047 (2005).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
130-15181	N-Methyl-4-pyridineboronic Acid iodide	有機合成用	100mg	6,000
132-15185			500mg	19,000
165-22241	Polystyrene-bound N-Methyl-4-pyridineboronic Acid Chloride	有機合成用	100mg	6,000
161-22243			500mg	19,000

改正水道法 陰イオン界面活性剤分析用

ワコーパック® ワコーシル AS-Aqua

ワコーシル® AS-Aqua 溶離液

水道水の水質基準の改定及び試験方法の見直しに伴い、陰イオン界面活性剤の分析方法は流路型吸光光度法から高速液体クロマトグラフ法へ改定されました。本法では分離用カラムにオクタデシルシリル基を化学結合したシリカゲルを充てんしたカラム (ODSカラム)、またはこれと同等の性能を有するものを使用したHPLC-蛍光検出法が採用されています。この方法に従いWakopak® Navi C 18-5 (ODSカラム) にて分析を行うと、多数のピークが検出されます。

一方、水質基準では陰イオン界面活性剤をトータル量として規定しており、これらのピーク本数が少なくなれば、検出感度の向上及び定量計算を簡略化することが可能になります。Wakopak® Wakosil AS-Aquaは、陰イオン界面活性剤の炭素数を認識し、分岐の状態を認識しない充てん剤を採用しており、陰イオン界面活性剤の簡易分析に最適なカラムです。

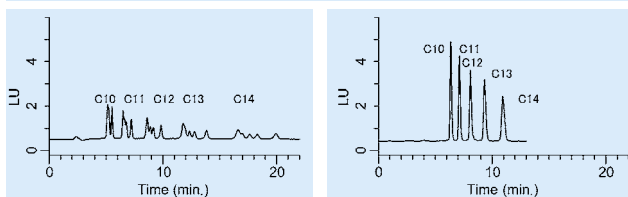
この度、Wakosil AS-Aqua専用溶離液の取扱いを開始しました。陰イオン界面活性剤の分析の際、Wakopak® Wakosil AS-Aqua、Wakopak® Navi C 18-5、双方の溶媒として使用いただけます。

陰イオン界面活性剤試験用標準液の分析

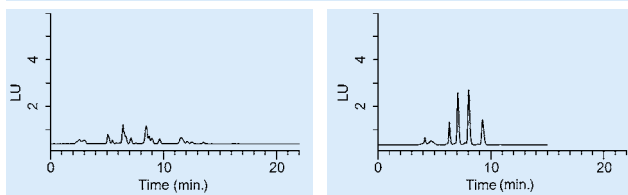
Wakopak® Navi C18-5, 4.6x250mm
(Flow rate : 1.0ml/min.)

Wakopak® Wakosil AS-Aqua, 4.6x250mm
(Flow rate : 0.7ml/min.)

水質試験用標準液



洗剤



Eluent : Wakosil® AS-Aqua Eluent

Detection : EM. 221 nm, EX. 284 nm

Injection : 10mg/l (CH₃OH), 10 μl

Sample : 陰イオン界面活性剤試験用標準液 (アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C 10~C 14))

コード No.	品名	カラムサイズ	希望納入価格 (円)
001-00030	Wakopak® Wakosil AS-Aqua (レ)	4.6φ×250mm	60,000
001-00030	Wakopak® Navi C18-5 (ケ)	4.6φ×250mm	48,000

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
238-02261	Wakosil® AS-Aqua Eluent	HPLC用	1 ℓ	6,500
013-20131	Anionic Surfactants Mixture Standard Solution (each 1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	25,000
195-13111	Sodium Decylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
192-13121	Sodium Undecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
199-13131	Sodium Dodecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
196-13141	Sodium Tridecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500
193-13151	Sodium Tetradecylbenzenesulfonate Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1ml × 5A	7,500

ハーフ缶 (試薬特級、1級) 溶媒

汎用性の高い溶媒に、一斗缶の半分のサイズであるハーフ缶をご用意しました。従来の一斗缶に比べ、持ち運びが容易であり、保管数量の低減もはかれます。

特長

- 持ち運びが容易
- 保管容量低減



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-00341	Acetone	試薬特級	7kg	照会
013-00351		和光一級	7kg	照会
034-02608	Chloroform	試薬特級	12kg	照会
031-02618		和光一級	12kg	照会
139-02444	Dichloromethane	試薬特級	10kg	照会
138-02453		和光一級	10kg	照会
057-01154	Diethyl Ether	試薬特級	10ℓ	照会
050-01161		和光一級	10ℓ	照会
053-00453	Ethanol(99.5)	試薬特級	9ℓ	照会
050-00463		試薬一級	9ℓ	照会
055-00354	Ethyl Acetate	試薬特級	8kg	照会
054-00368		和光一級	8kg	照会
081-00413	Hexane	試薬特級	6kg	照会
088-00423		和光一級	6kg	照会
131-01821	Methanol	試薬特級	7kg	照会
138-01831		和光一級	7kg	照会
162-04833	2-Propanol	試薬特級	7kg	照会
169-04843		和光一級	7kg	照会
208-08743	Tetrahydrofuran, with Stabilizer	試薬特級	8kg	照会
206-05101		和光一級	8kg	照会
200-01863	Toluene	試薬特級	7kg	照会
207-01873		和光一級	7kg	照会

日本薬局方適合 生薬有効成分(標品)

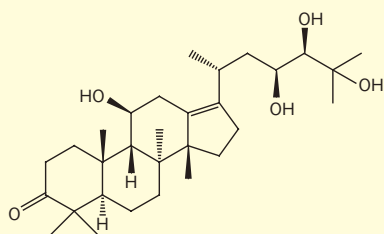
第十五改正日本薬局方に収載された生薬有効成分の試験に使用されます。日本薬局方一般試験法 試薬・試液の規格「薄層クロマトグラフィー用」または「成分含量測定用」に適合しています。

アリソール A

本品はタクシャに含有される有効成分です。「紫苓湯エキス」の確認試験に使用されます。

起 源： *Alisma orientale* Juzepczuk (*Alismataceae*)

CAS No. : 19885-10-0



$C_{30}H_{50}O_5 = 490.72$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-20681	Alisol A	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	20mg	近日発売

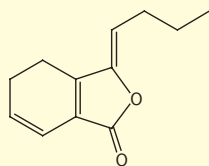
(Z)-リグスチリド

本品はトウキに含有される有効成分です。「補中益気湯エキス」の確認試験に使用されます。

起 源： *Angelica acutiloba* Kitagawa

Angelica acutiloba Kitagawa var. *sugiyamae*
Hikino (*Umbelliferae*)

CAS No. : 4431-01-0



$C_{12}H_{14}O_2 = 190.24$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
128-05311	(Z)-Ligustilide	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	20mg	近日発売

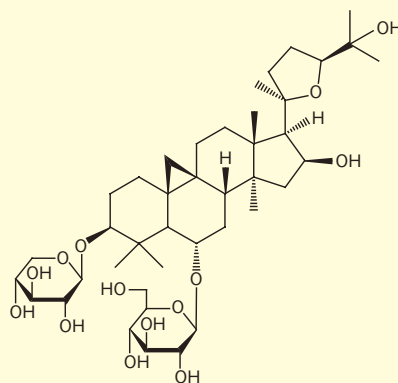
アストラガロシド IV

本品はオウギに含有される有効成分です。「補中益気湯エキス」の確認試験に使用されます。

起 源： *Astragalus membranaceus* Bunge

Astragalus mongholicus Bunge (*Leguminosae*)

CAS No. : 84687-43-4



$C_{41}H_{68}O_{14} = 784.97$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
015-20691	Astragaloside IV	局方生薬試験用 (薄層クロマトグラフィー用)	20mg	近日発売

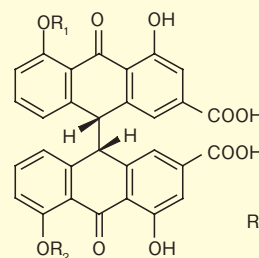
センノシド B

本品はセンナに含有される有効成分です。「センナ末」の成分含量測定に使用されます。

起 源： *Cassia angustifolia* Vahl

Cassia acutifolia Delile (*Leguminosae*)

CAS No. : 128-57-4



$R_1=R_2=Glc-$

$C_{42}H_{38}O_{20} = 862.74$

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
194-13941	Sennoside B	局方生薬試験用 (成分含量測定用)	10mg	18,000

ポジティブリスト 関連品目

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基準が設定されました。これにより一定量を越えた農薬などを含む食品の流通が規制されるポジティブリスト制度が、平成 18 年 5 月 29 日より施行されました。

当社では、ポジティブリスト制度に対応した標準品を順次商品化しています。

一斉試験法対応

農薬混合液

ポジティブリスト制度施行に向けて、平成 17 年 11 月に厚生労働省より一斉試験法が通達されました（食安発第 1129002 号）。本品はこの一斉試験法に対応した農薬混合液です。

成分一覧

No. は「食品中に残留する農薬等の暫定基準（最終案）」に記載されているそれぞれの成分の番号です。

■ 農薬混合液 PL-1-1 (農・PL-1) 32 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アジンホスメチル	32	スピロキサミン	300	フェンプロピモルフ	524
アトラジン	39	チオベンカルブ	355	フルシトリネート	554
β-エンドスルファン	112	テフトラリン	375	フルバリンネート	561
オキサジアゾン	118	テルブリン	381	プロシミドン	576
オメトエート	132	テルブホス	382	trans-ベルメトリン	619
クレソキシムメチル	166	トリフルラリン	403	cis-ベルメトリン	619
クロルピリホスメチル	194	フルフルラゾン	440	ペンコナゾール	620
クロルフェナビル	195	ピフェントリン	473	ペンディメタリン	631
シフルトリン	272	ヒレトリン	497	マラチオン	652
ジフルフェニカン	274	フェナミホス	504	メチダチオン	674
ジメトエート	290	フェナリモル	505		

■ 農薬混合液 PL-2-1 (農・PL-2) 31 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アラクロール	50	トリアジメノール	387	プロバネグット	586
イソフェンホスオキソン	70	トリアレート	391	プロピコナゾール	587
イソフェンホス	70	ピラクロホス	480	プロピザミド	588
イソプロチオラン	71	ピリプロキシフェン	491	プロボキシル	594
エチオン	92	ピンクロゾリン	499	ヘキサジノン	609
カルボフラン	151	フェントロチオン	506	ホスメット	640
キントゼン	161	フェンチオン	516	マイクロブタニル	655
クロルフェンビンホス	197	フェンコナゾール	521	メキシクロル	678
ジフェノコナゾール	268	プロフロフェジン	535	メトラクロール	685
シプロコナゾール	278	フルキコナゾール	552		
テトラクロルピホス	367	フルリジン	572		

■ 農薬混合液 PL-3-1 (農・PL-3) 29 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
γ-BHC (リンデン)	現01	シハルメトリン	280	ピリダベン	487
アセタミプリド	35	シマジン	283	ピリホスメチル	494
アレスリン	57	ダイアジノン	343	フィプロニル	503
エトプロホス	102	テブコナゾール	370	フェンバレート	519
α-エンドスルファン	112	デルタメトリン	379	フェンプロバトリン	523
オキシフルオルフェン	127	トリアジメホス	388	フルトラニル	558
キノキシフェン	156	トリアゾホス	390	プロバニル	583
クロルピリホス	193	パラチオン	450	プロフェノホス	589
クロロベンジレート	207	パラチオンメチル	451	プロモプロピレート	602
シハロトリン	263	ピテルタノール	467		

■ 農薬混合液 PL-4-1 (農・PL-4) 37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
β-BHC	現01	イマザメベスチルエステル	80	ピリダフェンチオン	486
δ-BHC	現01	イミベンコナゾール	87	ピロキロン	498
ジエトフェンカルブ	現20	ウニコナゾール P	89	フェントエート	518
トルクロホスメチル	現35	エタルフルラリン	91	フサライド	528
ピリミノバックメチル(Z)	現45	エトキサゾール	96	ブピリメート	534
ピリミノバックメチル(E)	現45	クロルタールジメチル	191	フルアクリピリム	545
ブタクロー	現50	ジクロラン	244	ホスチアゼート	637
フレチラクロー	現53	ジメテナミド	289	ホスファミン	638
メフェナセット	現58	ジメビバレート	292	メビンホス	689
レナシリン	現62	テクナゼン	363	メフェンピルジエチル	690
アザコナゾール	24	テトラジホス	369	モノクロホス	696
アニコホス	41	トラロトリン	379		
アトリン	48	ハルフェンプロックス	454		

■ 農薬混合液 PL-5-1 (農・PL-5) 37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
EPN	現03	メプロニル	現59	トリブホス	399
インプロカルブ	現04	カズサホス	現61	ピラフルフェンエチル	484
エスプロカルブ	現08	アクリナトリン	22	ピリメタニル	495
ジクロシメット	現21	アセトクロー	36	フェノチオカルブ	510
ジメチルビンホス(Z)	現25	イソキサチオン	66	フルチアセットメチル	557
シメトリン	現26	イプロベンホス	75	フルミクロックベンチル	568
テニクロロー	現31	イベンコナゾール船ベンジル体	87	プロバクロー	581
トリシクラゾール	現34	エトフェンプロックス	100	プロトリン	598
ピフェノックス	現40	クロルプロファミン	200	プロモホス	603
ピリフェノックス(E)	現43	ジメタトリン	286	ヘナラキシル	614
フェンシルホチオン	現48	ゾキサミド	341	ホサロン	635
プロチオホス	現54	ターバシル	342		
ベンフレセート	現57	テトラコナゾール	368		

■ 農薬混合液 PL-6-1 (農・PL-6) 37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
α-BHC	現01	キノクラミン	157	フェノトリン	511
エディフェンホス	現11	シアナジン	221	ブタミホス	530
カフェンストロー	現16	シアノホス	223	フラムプロップメチル	541
シハロホップブチル	現24	ジクロフェンチオン	238	フルミオキサジン	567
チルザミド	現29	ジクロホップメチル	243	プロバジン	582
トルフェンピラド	現36	ジフェナド	265	プロマシル	595
ピリフェノックス(Z)	現43	テブフェンピラド	373	プロモブチド	601
ピリブチカルブ	現44	トリプロキシストロピン	404	ヘキサコナゾール	608
フェノキサニル	現47	ナプロバミド	421	ペノキサコル	615
プロトドロジャスモン	現55	ニトローバルイソプロピル	432	ベンフルラリン	633
XMC	20	バクプロトラゾール	446	メフェノキサム	672
オキサジキシル	119	ビペロホス	476		
キナルホス	155	ピラゾホス	482		

■ 農薬混合液 PL-7-1 (農・PL-7) 30 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アザメチホス	27	クロマフェンジド	183	ピラゾリネート	483
アジンホスメチル	32	クロリダジン	186	ピリフタリド	490
アニコホス	41	シアゾファミド	220	フェノキシカルブ	508
アベルメクチン B1a	42	シフルフェナミド	273	フェリムゾン(E)	513
インキサフルトール	67	シメコナゾール	285	フェリムゾン(Z)	513
イプロバリカルブ	74	ジメチリモール	288	ブタフェナシル	529
インドキサカルブ	88	チアクロリド	347	フラチオカルブ	539
オリザリン	134	チアベンダゾール	350	ベンゾフェナップ	628
クロキントセットメキシル	170	チアメキサム	352	ミルベメクチン A3	657
クロチアアジジン	176	ナプロアニリド	420	メキシフェンジド	679

■ 農薬混合液 PL-8-1 (農・PL-8) 21 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
1-ナフタレン酢酸	3	ジクロスラム	237	フルメツラム	570
4-クロロフェノキシ酢酸	11	ジクロルプロップ	245	フルロキシビル	573
MCPB	16	ジバレーン	281	プロモキシニル	599
アイオキシニル	21	チジアズロン	357	フロラスラム	605
アンプルオルフェン	28	チフェンシルフロメチル	359	ホメサフェン	642
クロプロップ	181	トリクロピル	393	ホルクロルフェニル	646
クロラシラムメチル	185	ハロキシホップ	456	メコプロップ	661

■ 農薬混合液 PL-9-1 (農・PL-9) 18 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
EPTC	14	クロロネブ	208	フェノキサプロップエチル	507
イプロジオン	73	ジフェルアミン	267	フェノブカルブ	512
イプロジオン代謝物	73	ピオレストリン	462	エスフェンバレート	519
イマザリル	82	ビペロニルプロキジド	475	フルシラゾール	555
エトリジアゾール	103	ピリミカルブ	492	プロクロラズ	575
エンドスルファン	112	ファミフル	501	プロバタンホス	591

[次頁に続く]

■ 農薬混合液 PL-10-1 (農・PL-10)

9 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アセフェート	37	アルドキシカルブ	55	ペンダイオカルブ	629
アゾキシストロピン	38	カルバリル	144	メタラキシル	672
アルジカルブ	54	チアベンダゾール	350	メトリブジン	686

■ 農薬混合液 PL-11-1 (農・PL-11)

15 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
<i>p,p'</i> -DDT	13	<i>trans</i> -クロルデン	192	アルドリノ	361
<i>o,p'</i> -DDT	13	<i>cis</i> -クロルデン	192	ヘキサクロロベンゼン	607
<i>p,p'</i> -DDD	13	オキシクロルデン	192	ヘプタクロル	617
<i>p,p'</i> -DDE	13	ジコホール	250	ヘプタクロルエポキシド(isomerA)	617
エンドリン	114	ディルドリン	361	ヘプタクロルエポキシド(isomerB)	617

本品の組合せにより、一斉試験法に記載されているほとんどの成分を揃えることができます。

一部、一斉試験法記載の成分で、混合液に含まれていない成分があります。

一斉試験法(食安発第 1129002 号による)	対応商品(略号)
GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-4、農・PL-5、農・PL-6、農・PL-11
LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)	農・PL-7
LC/MS による農薬等の一斉試験法 II (農産物)	農・PL-8
GC/MS による農薬等の一斉試験法(畜水産物) [筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類]	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-9、農・PL-11
GC/MS による農薬等の一斉試験法(畜水産物) [乳、卵及びはちみつ]	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-9、農・PL-10、農・PL-11
HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)	動物用医薬品混合液* (仮称) 発売予定
HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 II (畜水産物)	動物用医薬品混合液* (仮称) 発売予定

* 動物用医薬品混合液(高速液体クロマトグラフ用)についてはお問合せ下さい。

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
169-22261	農薬混合液 PL-1-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	40,000
166-22271	農薬混合液 PL-2-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	40,000
163-22281	農薬混合液 PL-3-1 (各20μg/ml アセトン溶液)*1	1ml×5A	40,000
160-22291	農薬混合液 PL-4-1 (各20μg/ml アセトン溶液)*1	1ml×5A	45,000
163-22301	農薬混合液 PL-5-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	45,000
160-22311	農薬混合液 PL-6-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	45,000
167-22321	農薬混合液 PL-7-1 (各20μg/ml アセトニトリル溶液)	1ml×5A	45,000
164-22331	農薬混合液 PL-8-1 (各20μg/ml アセトニトリル溶液)	1ml×5A	35,000
161-22341	農薬混合液 PL-9-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	30,000
168-22351	農薬混合液 PL-10-1 (各20μg/ml アセトン溶液)	1ml×5A	20,000
558-90541	農薬混合液 PL-11-1 (各20μg/ml アセトン溶液)*2	1ml×5A	50,000

*1 農薬混合液 PL-3-1 及び農薬混合液 PL-4-1 は特定毒物のためご購入の際は、「特定毒物研究者許可証」が必要となります。

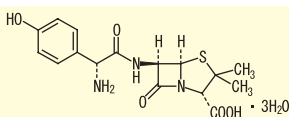
*2 農薬混合液 PL-11-1 は第1種特定化学物質のため、ご購入の際は、「確約書」が必要となります。

高速液体クロマトグラフ用

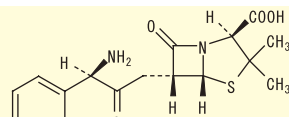
動物用医薬品標準品

HPLC で分析する際に使用できる動物用医薬品の標準品です。

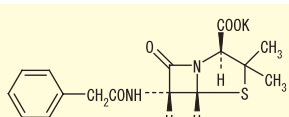
■ アモキシシリン三水和物標準品



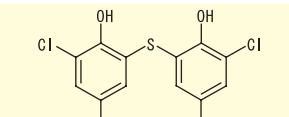
■ アンピシリン標準品



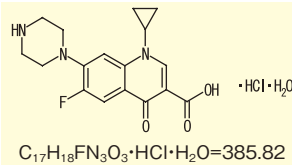
■ ベンジルペニシリンカリウム標準品



■ ビチオノール標準品



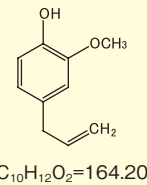
■ シプロフロキサシン塩酸塩一水和物標準品



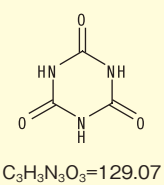
■ ジニトルミド標準品



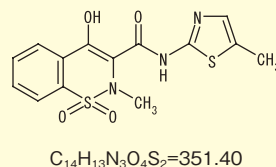
■ オイゲノール標準品



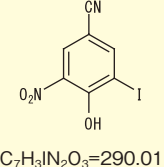
■ イソシアヌル酸標準品



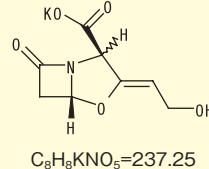
■ メロキシカム標準品



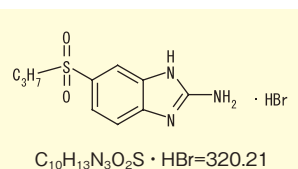
■ ニトロキシニル標準品



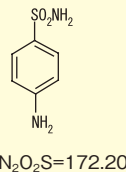
■ クラプラン酸カリウム標準品



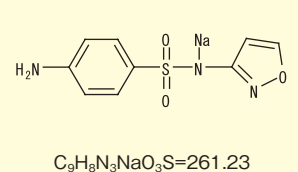
■ 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン標準品



■ スルファニルアミド標準品



■ スルフィソゾールナトリウム標準品



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-20441	Amoxicillin Trihydrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
017-20531	Ampicillin Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
025-15501	Benzylpenicillin Potassium Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
028-15351	Bithionol Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	6,000
033-19621	Ciprofloxacin Hydrochloride Monohydrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
049-29531	Dinitolmide Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	6,000
059-07351	Eugenol Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
091-05311	Isocyanuric Acid Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	6,000
135-15131	Meloxicam Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
142-08231	Nitroxynil Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	6,000
166-21791	Potassium Clavulanate Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	23,000
164-22211	5-Propylsulfonfyl-1H-benzimidazole-2-amine Hydrobromide Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	30,000
198-14061	Sulfanilamide Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	7,000
195-14071	Sulfisozole Sodium Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000

組織固定用



PLP 溶液セット

PLP 固定は糖を含む分子の固定に優れ免疫組織化学的検索に有用です。また、組織形態の保持も良好なため凍結切片においても、パラフィン切片に近い状態で観察できることが特長です。一方で、PLP 固定液はパラホルムアルデヒド溶液の調製の煩雑さやリジン溶液の不安定さのため、調製に手間のかかる組織固定液として知られています。本品は、その問題点を解決し、保存安定性に優れ、かつ混ぜるだけで調製できる簡便な PLP 固定液としてセット化した商品です。

特長

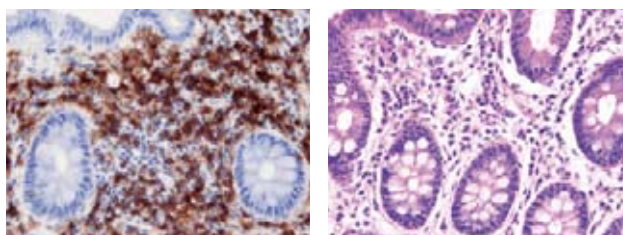
- コンパクトな5倍濃縮液
- 3液を使用法に従って混合するだけで、PLP 液が簡単に調製できる¹⁾
- 保存安定性に優れている



キット内容

- Solution A (リジン-りん酸緩衝液) 50ml × 1本
- Solution B (10%パラホルムアルデヒド溶液) 50ml × 1本
- Solution C (メタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液) 50ml × 1本

使用例



結腸粘膜 免疫組織染色(×400) HE 染色(×400倍)
倍) : CD4/MT310 抗体を使用

固定条件 : PLP 溶液セットで4℃一晩固定
組織の状態 : 凍結切片

(データ提供 : 筑波大学附属病院病理部 鈴木悦生先生、古屋周一郎先生)

【参考文献】

- 1) 日本病理学会編 : 「病理組織化学とその技術」, p.206 (医歯薬出版(株)) (1986).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
290-63201	PLP Solution Set	組織固定用	1セット	15,000

Information

病理組織包埋用 パソプレップ[®]568 (パラフィンペレット、ポリマー添加品) 新容器のご案内

病理研究用試薬として従来からご使用頂いておりますパソプレップ[®]568 は右図のように新容器に変更になります。品質と性能は変更ありませんので、関連商品共々ご愛用下さいますようお願い致します。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
162-18961	Pathoprep [®] 568 (mp 56 ~ 58°C)	病理組織包埋用	500g × 12	13,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
167-20501	Pathoprep [®] 546 (mp 54 ~ 56°C)	病理組織包埋用	2kg × 3	12,000
165-19551	Pathoprep [®] 580 (mp 58 ~ 60°C)	病理組織包埋用	2kg × 3	13,000

新容器



容器の開け方は従来と変わりはありません。

①左右とも、完全に押しひろげます



②手前に充分に引きます



ポリアクリルアミドゲル



スーパーセップ™

スーパーセップ™は、タンパク質や核酸の電気泳動用ポリアクリルアミドプレキャストゲルです。ゲル中にSDSが含まれておりませんので、SDSを含む緩衝液を用いるとSDS-PAGE、SDS不含の緩衝液を用いるとNative-PAGEに使用可能です。

特長

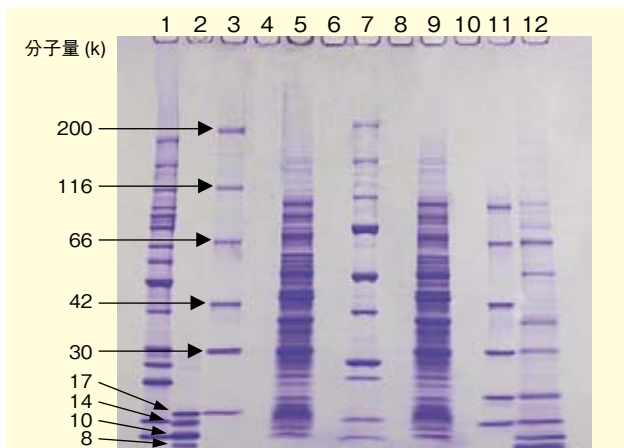
- 保存安定性が優れている（使用期限は品目により製造日から6～9ヶ月）
- 再現性が優れている
- ウェル容積が大きく、サンプルのアプライ量が多い
- ウェスタンブロットングにおいて、タンパク質のPVDF膜への転写効率が優れている
- HGタイプのゲルは、新製法により高分離を実現



プレートサイズ：
100(H)×100(W)×3(T) (mm)
ウェル容積：
35 μ l (12well), 25 μ l (17well)
*推奨アプライ量 10 μ l

泳動例

スーパーセップ™HG, 5-20%ゲルを用いたSDS-PAGE



ゲル：スーパーセップ™HG, 5-20%, 12well

[コードNo. 195-13611]

サンプルバッファー：Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME+)

[コードNo. 196-11022]

泳動バッファー：Running Buffer Soln. (×10)

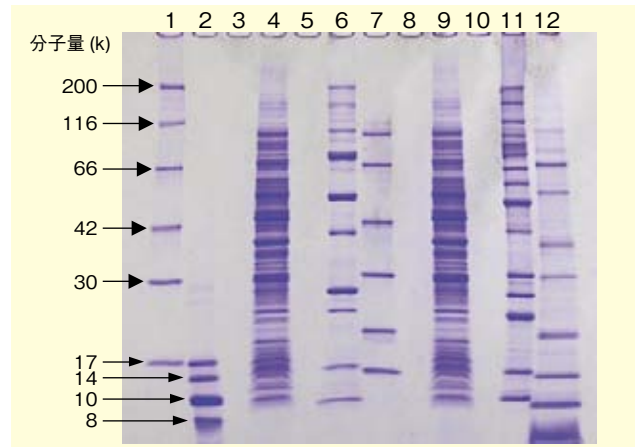
[コードNo. 184-01291]

染色：クイック-CBB [コードNo. 299-50101]

サンプル：Lane 5, 9 大腸菌由来タンパク質

Lane 1, 2, 3, 7, 11, 12 タンパク質分子量マーカー

スーパーセップ™HG, 10-20%ゲルを用いたSDS-PAGE



ゲル：スーパーセップ™HG, 10-20%, 12well

[コードNo. 199-13631]

サンプルバッファー：Sample Buffer Soln. (×2, 2-ME+)

[コードNo. 196-11022]

泳動バッファー：Running Buffer Soln. (×10)

[コードNo. 184-01291]

染色：クイック-CBB [コードNo. 299-50101]

サンプル：Lane 4, 9 大腸菌由来タンパク質

Lane 1, 2, 6, 7, 11, 12 タンパク質分子量マーカー

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

*2Dとは、2次元電気泳動の2次元目(SDS-PAGE)に使用するゲルです。

チオール/セレノール選択的蛍光プローブ Wako BES-Thio

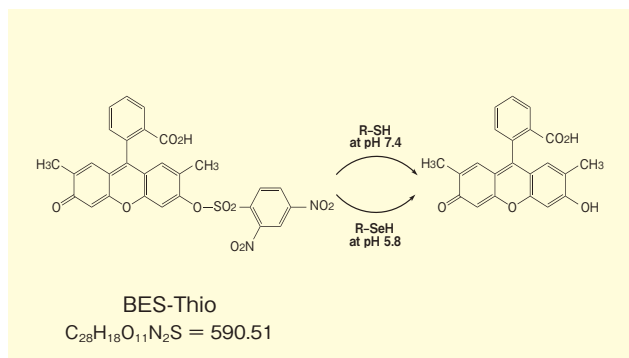
チオール基を検出する試薬としていくつかの化学発光・発色試薬及び蛍光試薬が知られており、チオール基の検出やコリンエステラーゼの酵素活性測定に用いられています。しかしこれらのチオール基検出試薬の多くは親水性が低いため酵素反応と検出反応を別々に行う必要がありました。

BES-Thioは親水性が高いため水溶液として用いることができます。そのため、アセチルチオコリンやブチリルチオコリンを基質として用いることでコリンエステラーゼなどの酵素活性測定を簡便に行うことができます。

また、pHを変えることによってチオール基の硫黄 (S) がセレン (Se) に置換したセレノール基を検出することができ、本品はセレノプロテイン検出用試薬として用いることができます。

特長

- 高い親水性
- pH 7.4においてチオールに反応
- pH 5.8においてセレノールに反応



測定

励起波長：495 nm
蛍光波長：535 nm

【参考文献】

- 1) Maeda, H., Matsuno, H., Ushida, M., Katayama, K., Saeki, K. and Itoh, N.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2922 (2005).
- 2) Maeda, H., Katayama, K., Matsuno, H. and Uno, T.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 1810 (2006).
- 3) 前田初男: 和光純薬時報, **73**(3), 2 (2005).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
025-15481	BES-Thio	細胞生物学用	1mg	25,000

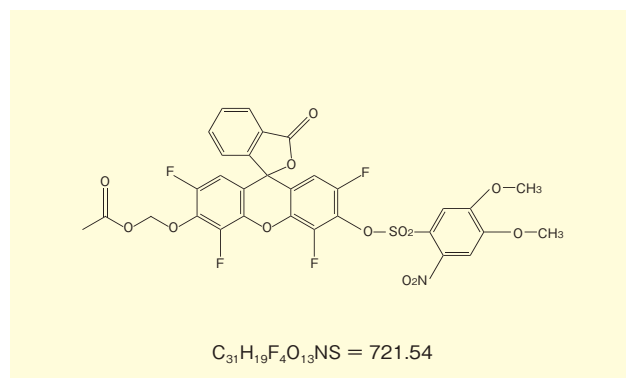
スーパーオキシド特異的蛍光プローブ Wako BES-So

スーパーオキシド (O₂^{•-}) はそれ自体の細胞毒性は弱い活性酸素ですが、さまざまな活性酸素種の最上流に位置する分子であり、注目を集めています。

さまざまな化学発光法や蛍光法に基づいた O₂^{•-} 検出が行われており、中でも Hydroethidine が頻繁に用いられています。しかし Hydroethidine をはじめとする従来のプローブは、O₂^{•-} に対する選択性が低いと指摘されています。BES-So は酸化還元反応に依存しない発蛍光機構によって蛍光を与えるため、O₂^{•-} に対して高い選択性を示します。

特長

- 細胞内に取込まれた後、細胞内エステラーゼの作用によりアセトキシメチル基がはずれた化合物が O₂^{•-} に反応



測定

励起波長：505 nm
蛍光波長：544 nm

【参考文献】

- 1) 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 (2005).

近日発売

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
021-15601	BES-So	細胞生物学用	1mg	25,000

関連商品

過酸化水素特異的蛍光プローブ

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

非標識で細胞数、細胞形態変化をリアルタイム自動測定 リアルタイム細胞計測システム「RT-CES™」



RT-CES™システムは細胞数・細胞状態変化などを非標識、リアルタイムでしかも連続的に自動測定する画期的なシステムです。従来までの細胞アッセイは、多くがシングルファンクションを対象としたエンドポイント測定を用いていました。しかし、細胞の時間的、空間的な挙動を測定できれば、遥かに多くの情報を得ることが可能になります。

RT-CES™システムは、これまで困難であった細胞の状態変化測定を可能とし、マルチファンクショナルアッセイを実現します。

特長

- 非標識測定
- リアルタイム測定
- 自動測定

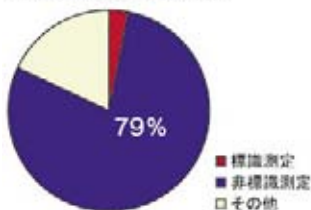


アプリケーション

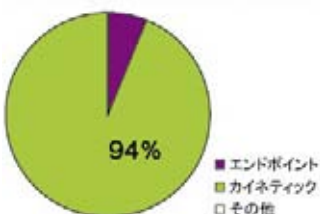
がん研究	細胞毒性試験での化合物プロファイリング 細胞傷害活性(NK細胞、細胞傷害性T細胞) 細胞浸潤、細胞遊走
レセプター	GPCR、受容体型チロシキナーゼなど 細胞接着、細胞伸展のモニタリング
接着分子	T細胞活性化のモニタリング
アレルギー	マスト細胞の脱顆粒
バリアー機能	バリアー機能のモニタリング (トロンピン、EGFの効果など)

下記は当社にて実施したセミナー（2006年）でのアンケート結果です。機能的な細胞測定では、細胞に標識するよりも非標識で行うのが望ましく、また、細胞のアッセイは将来的にはより多くの情報を得られるカイネティック測定に移行するという結果が得られました。

■機能的細胞測定の将来像

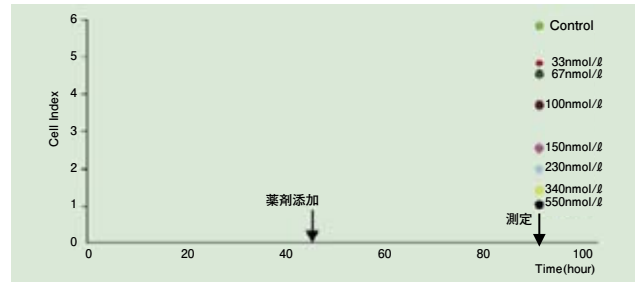


■有用な情報をより得られる細胞測定方法

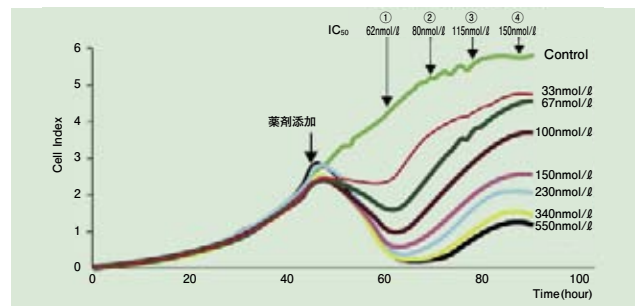


アプリケーション例

細胞を用いた抗腫瘍効果の研究 / 変化する IC₅₀
〈通常の測定〉



〈RT-CES™の測定〉



通常抗がん剤の活性を見るためには、上図のようにIC₅₀をエンドポイントで測定します。これに対し、RT-CES™システムを用いれば、下図のように細胞数の変化がリアルタイムで分かり、時間を追って細胞の状態変化を詳細に捉えることができます。下図中に示したように①～④の測定ポイントに対し、PaclitaxelのIC₅₀は62nmol/L、80nmol/L、115nmol/L、150nmol/Lと時間と共に大きく変化します。このような理由から、実際の細胞の状態変化を知るためには、細胞のアッセイにおけるカイネティック測定が非常に重要になってきます。

システム構成

コンピュータシステム	アナライザー	プレートステーション	専用プレート
	 W200	 16×ステーション	 16×プレート
		 96×ステーション	 96×プレート
		 CIM16×ステーション	 CIM16×プレート
	 W300	 96×MPステーション	 96×プレート

品名	希望納入価格(円)
RT-CES™システム	10,450,000 ~ 25,000,000*

*システム構成により異なります。詳しくはお問合せ下さい。

Aβ(1-42)及びAβ(x-42)を高感度に測定! Wako 高感度βアミロイドELISAキット

本品は、アルツハイマー病との相関が指摘されているβアミロイド(1-42)及びβアミロイド(x-42)を高感度に測定するELISAキットです。従来のキットと比較して検出感度が約10倍高感度化されており、検量線範囲は0.1~20.0 (pmol/ℓ)です。また、従来品同様に標識抗体がFab'化されていますので、非特異結合が低く抑えられています。

特長

- 高感度にAβ(1-42)及びAβ(x-42)が測定できる (検量線範囲: 0.1~20.0 pmol/ℓ)
- C末端認識抗体(BC05)がFab'化されており非特異結合が少ない
- 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

キット内容

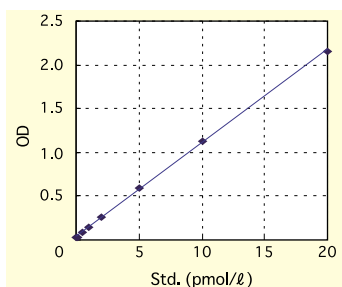
- 抗体固相化マイクロプレート 1枚
- スタンダード溶液 2mℓ × 2本
- スタンダード希釈液 20mℓ × 1本
- 洗浄液(20×) 50mℓ × 1本
- HRP標識抗体溶液 12mℓ × 1本
- TMB溶液 12mℓ × 1本
- 停止液 12mℓ × 1本
- プレートシール 3枚

データ

標準曲線

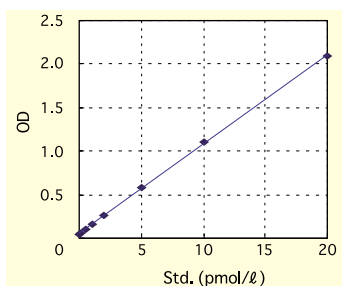
ヒトβアミロイド(1-42) ELISAキット

Std. (pmol/ℓ)	Mean(=3) (OD at 450nm)	CV (%)
0	0.023	2.55
0.1	0.035	2.86
0.5	0.083	1.20
1.0	0.142	1.46
2.0	0.266	0.65
5.0	0.591	2.72
10.0	1.132	3.08
20.0	2.159	2.20

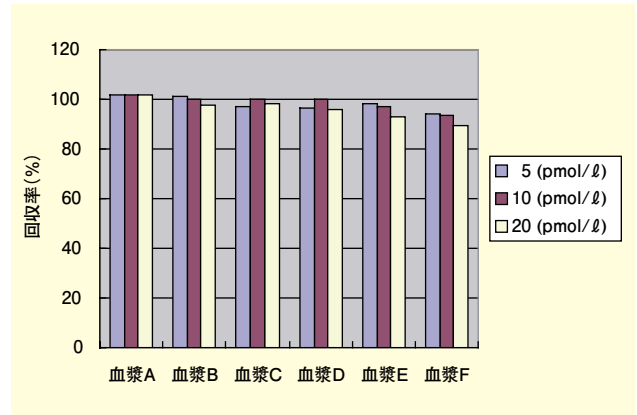


ヒト/ラットβアミロイド(42) ELISAキット

Std. (pmol/ℓ)	Mean(=3) (OD at 450nm)	CV (%)
0	0.046	1.26
0.1	0.056	2.74
0.5	0.097	2.39
1.0	0.154	0.99
2.0	0.264	1.31
5.0	0.582	1.07
10.0	1.099	0.48
20.0	2.092	1.01



添加回収試験



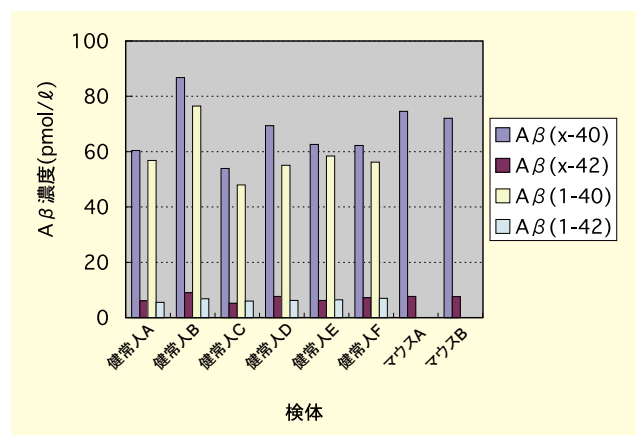
血漿に5、10、20 (pmol/ℓ) のヒトAβを添加後、4倍希釈して測定した時の回収率(%) (測定値/理論値)。いずれも高い回収率を示している。

特異性試験

測定対象	ヒトβアミロイド(1-42) ELISAキット, 高感度品	ヒト/ラットβアミロイド(42) ELISAキット, 高感度品
ヒトAβ(1-40)	≤0.1	≤0.1
ヒトAβ(1-42)	100.0	100.0
ヒトAβ(1-43)	13.5	12.7
ラット(マウス)Aβ(1-40)	≤0.1	≤0.1
ラット(マウス)Aβ(1-42)	0.54	156.0

測定例

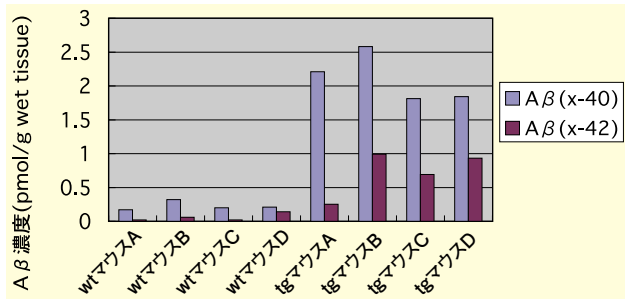
ヒト、マウス血漿の測定



EDTA 2K真空採血管を用いて採血した血液を5,000×g、4℃、15分間遠心し血漿を分離し、使用時まで-80℃保存した。この検体をキット付属のスタンダード希釈液で4倍希釈して測定した。(※ Aβ(1-40)及びAβ(x-40)の測定には、ヒトβアミロイド(1-40) ELISAキットワコーⅡ [コードNo. 298-64601] 及びヒト/ラットβアミロイド(40) ELISAキットワコーⅡ [コードNo. 294-64701] を使用)

[次頁に続く]

■ 正常マウス脳組織の測定



12ヶ月齢J20マウスの脳半球を2mℓのTris Salineで抽出し、使用時まで-20℃凍結保存した。この検体をキット付属のスタンダード希釈液で2倍希釈して測定した。トランスジェニック(tg)マウスだけでなく野生型(wt)マウス中の微量Aβも測定可能であった。

(データ提供：東京大学大学院薬学研究科 臨床薬学教室 岩坪教授、橋本助手)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-64401	Human β Amyloid(1-42)ELISA Kit Wako, High Sensitive	免疫化学用	96回用	90,000
292-64501	Human/Rat β Amyloid(42)ELISA Kit Wako, High Sensitive	免疫化学用	96回用	90,000

Aβ(1-40)及びAβ(x-40)測定系の改良キット Wako

ヒトβアミロイド(1-40)ELISAキットクォーII

ヒト/ラットβアミロイド(40)ELISAキットクォーII

本キットは、Aβ40のC末端を認識する標識抗体BA27をF(ab')₂化することにより、非特異結合を低く抑えながら、抗原抗体反応の安定性を高めたキットです。これにより、洗浄液中でも安定性が向上しています。また、ヒト/ラットの系では、バックグラウンドが低く抑えられています。

IIキットと従来品との違い

- C末端認識抗体BA27のF(ab')₂化により、従来品より抗原抗体反応が安定
- ヒト/ラットの系は、従来品よりバックグラウンドが低下(約1/3)

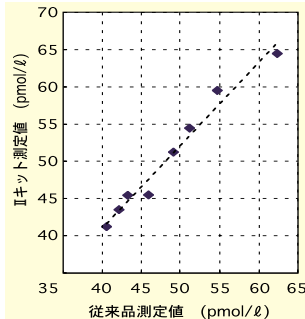
データ

■ IIキットと従来品の相関

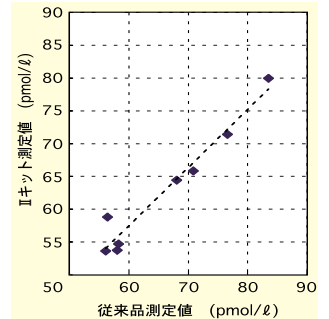
(pmol/ℓ)

検体	ヒトβアミロイド(1-40) ELISAキット		ヒト/ラットβアミロイド(40) ELISAキット	
	IIキット(F(ab') ₂ -HRP)	従来品(Fab'-HRP)	IIキット(F(ab') ₂ -HRP)	従来品(Fab'-HRP)
血漿A	45.9	45.5	56.4	58.8
血漿B	49.1	51.2	68.1	64.4
血漿C	62.4	64.4	83.5	79.9
血漿D	40.5	41.2	56.1	53.6
血漿E	42.1	43.5	58.0	53.7
血漿F	43.3	45.4	58.3	54.7
血漿G	54.7	59.5	76.7	71.4
血漿H	51.2	54.4	70.9	65.8

ヒトβアミロイド(1-40) ELISAキット



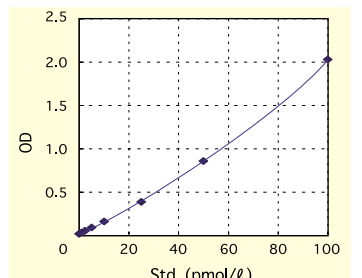
ヒト/ラットβアミロイド(40) ELISAキット



■ 標準曲線

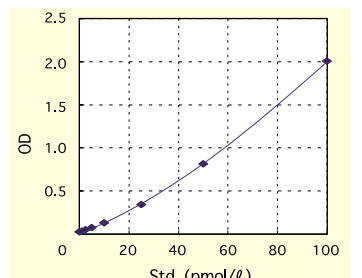
ヒトβアミロイド(1-40) ELISAキットII

Std. (pmol/ℓ)	Mean(=3) (OD at 450nm)	CV (%)
0	0.019	2.99
1.0	0.033	1.73
2.5	0.054	0.00
5.0	0.093	2.49
10.0	0.162	6.67
25.0	0.388	7.70
50.0	0.859	9.14
100.0	2.031	0.67



ヒト/ラットβアミロイド(40) ELISAキットII

Std. (pmol/ℓ)	Mean(=3) (OD at 450nm)	CV (%)
0	0.024	16.61
1.0	0.032	1.79
2.5	0.047	2.13
5.0	0.073	0.79
10.0	0.130	0.55
25.0	0.340	0.74
50.0	0.814	1.72
100.0	2.005	1.37



※ HRP標識抗体の反応時間は2時間となります。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-64601	Human β Amyloid(1-40)ELISA Kit Wako II	免疫化学用	96回用	78,000
294-64701	Human/Rat β Amyloid(40)ELISA Kit Wako II	免疫化学用	96回用	78,000

■ 関連商品

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

※ Aβ(x-40)、Aβ(x-42)は、N末端が切断や修飾を受けたAβペプチドです。
※本キットは体外診断用ではありません。

細胞外マトリックス



生体にはさまざまな細胞外マトリックスが存在し、複雑な網目構造を形成して細胞外空間を埋めています。細胞外マトリックスの主な構成成分にはコラーゲン、エラスチン、プロテオグリカンやラミニンなどが存在します。これら構成成分は、細胞接着因子としての物理的な機能のほか、受容体やサイトカインなどの細胞外因子を介して細胞の形態形成、遊走、分化や増殖など、生物学的機能を持つことが知られています。

コラーゲン, タイプI, サケ皮由来

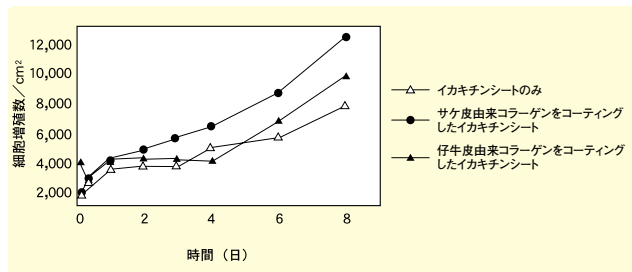
特長

- 生体親和性に優れたコラーゲン, タイプI
- ほ乳類由来コラーゲンよりも低い変性温度
- 高い安全性

由来: 天然サケの皮

形状: 白色～灰白色の綿状塊、凍結乾燥品

線維芽細胞の増殖曲線



コラーゲンをコーティングしたイカキチンシート上で線維芽細胞を培養し、細胞増殖数を計測した。

線維芽細胞は継代の際5,000 cells/cm²の濃度で播種し、5%CO₂、37°Cで一定期間静置培養を行った。細胞数計測は、イカキチンシートをPBSで洗浄後トリプシン-EDTAで細胞を剥離し計測した。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
031-19443	Collagen, Type I, from Salmon Skin	生化学用	200mg	6,500
035-19441			1g	26,000

エラスチン

特長

- 弾性線維を構成する細胞外マトリックス
- 水溶性エラスチン
- 国内産原料より抽出・精製

由来: ウシ項韌帯/ウマ項韌帯/ブタ大動脈

形状: 凍結乾燥品

【参考文献】

1) 岡元孝二: 和光純薬時報, 74(1), 7 (2006).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
054-07421	Elastin, Water Soluble, from Bovine Neck Ligament	細胞生物学用	100mg	18,000
053-07491	Elastin, Water Soluble, from Horse Neck Ligament	細胞生物学用	100mg	18,000
056-07481	Elastin, Water Soluble, from Porcine Aorta	細胞生物学用	100mg	24,000

プロテオグリカン, サケ鼻軟骨由来

特長

- 優れた保水性を持つ細胞外マトリックス
- コンドロイチン硫酸プロテオグリカン
- 従来のプロテオグリカンより低いコストで供給

由来: 近海産サケ鼻軟骨

形状: 凍結乾燥品

近日発売

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
162-22131	Proteoglycan, from Salmon Nasal Cartilage	細胞生物学用	10mg	16,000
168-22133			50mg	64,000

RNAiの分子メカニズム解明に Wako 抗ヒトAGO2、モノクローナル抗体

Argonaute 2 (AGO2) は、RNAi経路において標的RNAの認識、切断を行うRISC (RNA Induced Silencing Complex) の主要なコンポーネントとして同定されたタンパク質です。RNAi経路にはAGO2、miRNA経路にはAGO1が必須であることが分かってきました。

免疫原: 組換えヒトAGO2

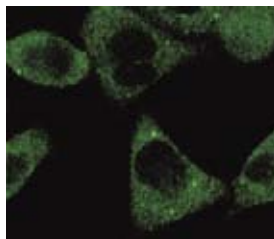
形状: 10%グリセリンを含むTBS溶液

クローンNo.: 4G8

精製法: アフィニティー精製

特異性: ヒトAGO2に特異的に反応する。

実用希釈倍数: Western blot 1:100
Immunoprecipitation 1:50
Immunocytochemistry 1:20 - 1:50



HeLa細胞の染色像
P-bodyへ局在したAGO2も検出可能

近日発売

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-20861	Anti Human AGO2, Monoclonal Antibody	免疫化学用	50 μl	30,000

新規赤色蛍光タンパク質発現ベクター EVRΩGEN pTurboRFP Vector

TurboRFPは、イソギンチャク *Entacmaea quadricolor* 由来の赤色蛍光タンパク質です。輝度がDsRed2の約2倍と赤色蛍光タンパク質では最も明るく、組織全体で効果的に検出できます。



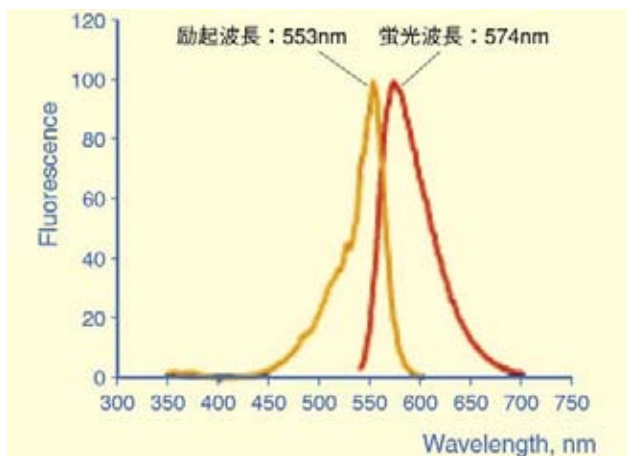
イソギンチャク
Entacmaea quadricolor

特長

- 超高輝度の赤色蛍光：DsRed2の約2倍
- 早いタンパク質フォールディング：
トランスフェクション後8-12時間以内で検出可能
- 高輝度なので蛍光バックグラウンドとの区別が容易

性能

励起・蛍光スペクトル



特性の比較

タンパク質	TurboRFP	DsRed2*1	DsRed-Express*1
蛍光色	赤	赤	赤
励起波長λEx (nm)	553	563	557
蛍光波長λEm (nm)	574	582	579
分子吸光係数 (M ⁻¹ cm ⁻¹)	92,000	43,800(65,000)	30,100
蛍光収率 (φ)	0.67	0.55	0.40
輝度*2	61.6	24.1 (35.8)	12.6
pK _a	4.4	4.5	—
分子量 (k)	約26.1	約25.8	約25.7
構造	ダイマー	テトラマー	テトラマー
検出時間 (時間)*3	8-12	24	8-12

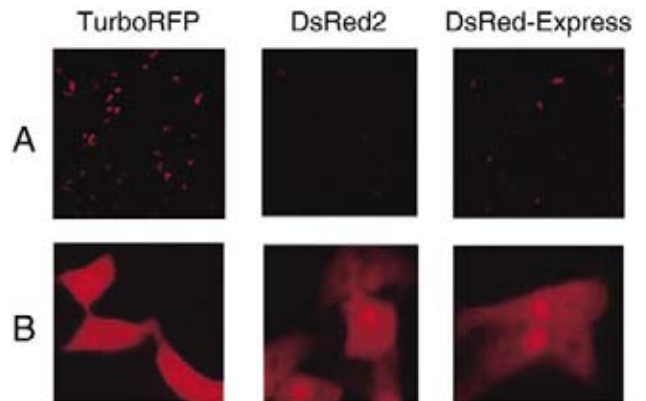
*1：DsRed2及びDsRed-Expressのデータは、メーカー値を引用したものです。

*2：輝度=分子吸光係数×蛍光収率/1,000

*3：哺乳動物細胞中において、トランスフェクションから検出までにかかる時間

データ

従来の赤色蛍光タンパク質との発現比較



TurboRFPとDsRed2及びDsRed-Expressとの発現比較

TurboRFP、DsRed2、DsRed-Expressを発現するベクターをトランスフェクションした後、各時間における蛍光強度を観察した。

A：22時間後

TurboRFPは、DsRed2、DsRed-Expressと比較して、最も明るい蛍光を確認した。検出にかかる時間が短く、蛍光強度が強いことを示唆している。

B：168時間（7日）後

DsRed2、DsRed-Expressは細胞質内で不均一にゴルジ体のような細胞内局在を示したが、TurboRFPは、細胞質内で均一に発現することを確認した。

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
550-86951	FP231	pTurboRFP-C vector (哺乳動物細胞用, C末端融合タイプ)	20 μg	84,000
557-86961	FP232	pTurboRFP-N vector (哺乳動物細胞用, N末端融合タイプ)	20 μg	84,000
554-86971	FP233	pTurboRFP-B vector (バクテリア用)	20 μg	84,000
558-86991	FP237	pTurboRFP-mito vector (ミトコンドリア局在解析用)	20 μg	84,000
551-86981	FP235	pTurboRFP-PRL vector (プロモーター機能解析用)	20 μg	84,000

License of TurboRFP products

This products contain a proprietary nucleic acid coding for a proprietary fluorescent protein(s) intended to be used by academic (non-commercial) entities and for research purposes only.

License of Evrogen products

Notice to Purchaser :

Evrogen Fluorescent Protein Products (the Products) are available to Purchasers for non-commercial non-for-profit research use. With purchase of the Products, Purchaser is granted a worldwide, non-exclusive, royalty-free, limited license to use the products for non-commercial life science research only. Such license specifically excludes the right to sell or otherwise transfer the Products, its components or derivatives to third parties and any uses or activities (or the results therefrom) that themselves generate revenue for the Purchaser. For commercial use of the Products please contact Evrogen at license@evrogen.com for license information.

Evrogen Fluorescent Proteins Licensing Program :

Evrogen offers fluorescent proteins (TurboGFP, Phi-Yellow, and JRed, patent applications pending) for commercial use under a license. Our Licensing Program is a cost-effective and flexible way for customers to obtain a variety of licensing options for internal use, providing services to third parties, manufacturing of novel products or other applications. Quick and convenient evaluation of Evrogen fluorescent protein-based technologies is easily available by purchase of fluorescent protein vectors of interest. For license information please contact Evrogen by e-mail at license@evrogen.com.

DNA 中の 5-メチルシトシン検出を高感度に

HUMAN GENETIC SIGNATURES

MethylEasy™ DNA Bisulphite Modification Kit

本品は、従来の bisulphite (亜硫酸水素塩) 法を改良し、修飾 DNA の収率や分析効率を向上させた DNA 中のメチル化状態を解析するキットです。DNA 分子中の 5-メチルシトシン (5-mC) と非メチル化シトシンを区別するために、亜硫酸水素塩の処理により非メチル化シトシンをウラシルへ特異的に変換する手法を利用しています。

5-mC はこの処理でも変化しないため、処理後の修飾 DNA をテンプレートとし、特異的なプライマーを用いた PCR によって DNA 中のメチル化状態を検出することができます。本キットで修飾した DNA は、シーケンス、Methylation Specific PCR、マイクロアレイ分析などでの応用が期待できます。

特長

- 遠心操作が少なく簡単
- DNA の前処理が不要
- 高分子 DNA を含め回収率が高い
- 100pg の DNA からスタートできる
- DNA のロスが非常に少ない
- DNA 増幅効率が高い
- 処理後の DNA の安定性がよい (1ヶ月以上安定)

キット内容

	25回用	96穴プレート用
● Reagent 1 (アルカリ溶液)	5.2ml × 1本	20.8ml × 1本
● Reagent 2 (亜硫酸水素塩粉末)	2g × 1本	8g × 1本
● Reagent 3	3ml × 1本	25ml × 1本
● Reagent 4	25ml × 1本	7ml × 1本
● Control Sample 1 ^{*1} (未処理 DNA)	40 μl × 1本	40 μl × 1本
● Control Sample 2 ^{*2} (処理済 DNA)	20 μl × 1本	20 μl × 1本
● Control Samples ^{*3} 3A&3B (プライマー)	40 μl × 2本	40 μl × 2本

その他、25回用には 2ml チューブ、96穴プレート用にはプレート、フィルム、キャップが含まれます。

※1 修飾反応 8 反応分。

※2 PCR 20 反応分。

※3 PCR 20 反応分。ヒト及びマウス由来のゲノム DNA を増幅できます。

保存条件

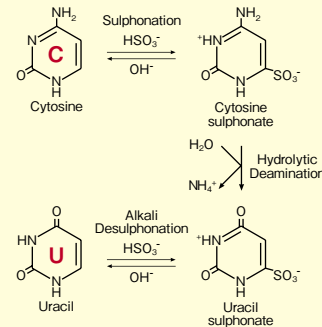
室温保存

※ Control Sample 1、2、3A&3B は製品到着後 -20℃ で保存して下さい。



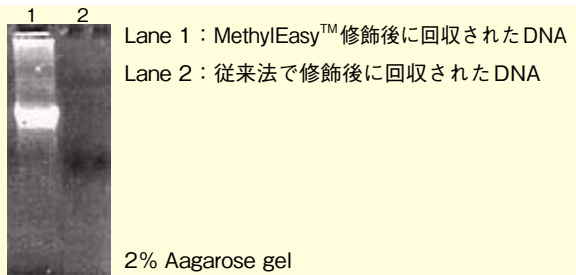
DNA 亜硫酸水素塩修飾の原理

C → U への変換



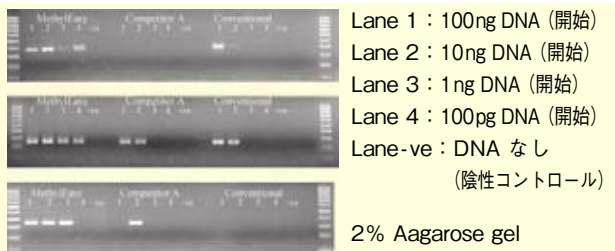
データ

従来法との DNA 回収率の比較：高回収率



2 μg の DNA を用いて、MethylEasy™ と従来法で処理を行った後、修飾 DNA の回収量をアガロースゲル電気泳動で確認した。

他社キット及び従来法との比較：微量 DNA からのスタート



100pg から 100ng の DNA を開始 DNA として用いて、MethylEasy™ と他社キット及び従来法で処理を行った後、異なる三種の遺伝子を PCR で増幅し、その感度をアガロースゲル電気泳動で確認した。

【参考文献】

- 1) Taranger, C. K., Noer, A., Sørensen, A. L., Håkeli, A. M., Boquest, A. C. and Collas, P.: *Mol. Biol. Cell*, **16**, 5719(2005).
- 2) Wang, J., Thompson, B., Ren, C., Ittmann, M. and Kwabi-Addo, B.: *Prostate*, **66**, 613(2006).

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
554-88931	ME 001	MethylEasy™ DNA Bisulphite Modification Kit	1キット (25回用)	52,000
551-88941	MEHT 002	MethylEasy™ High Throughput DNA Bisulphite Modification Kit - Centrifugation Method (遠心法)	1キット (96穴プレート用)	155,000
558-88951	MEHT 003	MethylEasy™ High Throughput DNA Bisulphite Modification Kit - Vacuum Manifold Method (吸引法)	1キット (96穴プレート用)	155,000

EUROGENTEC 社 Long PCR 用試薬 ニッポン・ジーン

DAP GoldStar® DNA ポリメラーゼ

本品は、ロングPCR、GCリッチDNAの増幅に適した新規の耐熱性DNAポリメラーゼです。

特 長

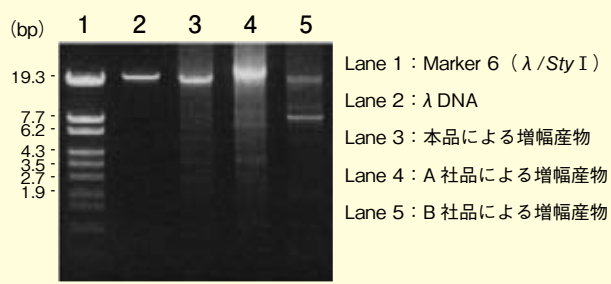
- 3'→5'エキソヌクレアーゼ活性によるブルーフリーディング活性を有しており、*Taq* DNA polymeraseの7倍以上の正確な増幅が可能
- ゲノムDNAを鋳型とした場合、約30kbのロングPCRが可能
- 増幅したPCR産物は、TAクローニングが可能
- GCリッチDNAをはじめとするPCRが難しいDNAの増幅用であるHISpec additive bufferの使用により、これらのDNA増幅が効率よく行える

キット内容

	(20units)	(250units)
● DAP GoldStar® DNA polymerase	5 μ l	62.5 μ l
● 10 × Optibuffer without Mg ²⁺	96 μ l	1.2ml
● 50mmol/l MgCl ₂	96 μ l	1.2ml
● 5 × HISpec additive	100 μ l	1.25ml

データ

実験データ 1

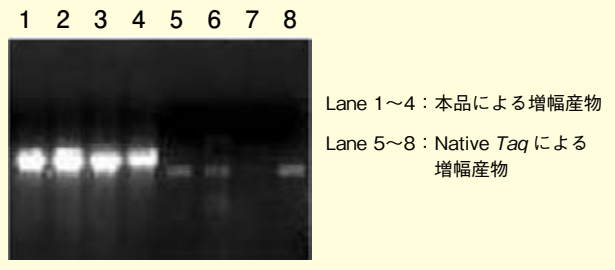


本品と他社品を使用して、 λ DNAを鋳型としPCR産物が約30kbとなるプライマーを用い、PCRを行った。

【結果】

本品で長いDNAを増幅する場合、他社品と比較して同等以上の効率及び特異的な増幅産物が得られた。

実験データ 2



GCリッチなDNAの増幅において、本品とNative *Taq*との比較を行った。

【結果】

Native *Taq*の場合、増幅量が非常に少ないが、本品の場合、GCリッチDNAを効率よく増幅している。

保存条件

-20℃保存

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
319-06583	DAP GoldStar® DNA polymerase	20 units	5,600
313-06581		250 units	50,000

関連商品

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格(円)
316-04011	<i>Taq</i> MutS	50 μ g	13,000
312-03234	Gene <i>Taq</i> NT	50 units	5,600
318-03231		250 units	22,500
314-03233		250 units × 4	79,000
310-80253	Hot GoldStar® DNA Polymerase	50 units	5,600
314-80251		500 units	45,000
315-06541	TA-Blunt Ligation Kit	5 回分	3,200
311-06543		50 回分	22,000

第5回和光純薬・日本製薬微生物試験セミナー開催のお知らせ

東京会場 (定員 250名)

日 時 : 2006年9月12日(火) 13:15~16:55

場 所 : 全電通ホール

大阪会場 (定員 250名)

日 時 : 2006年9月15日(金) 13:15~16:55

場 所 : 千里ライフサイエンスセンターホール

〈演 題〉・「第十五改正日本薬局方微生物関係試験について」

講 師 : 技術アドバイザー 城野 久美子 (薬学博士 元武田薬品工業株式会社)

・「製薬用水の微生物試験について」

講 師 : 田中 憲志 (日本製薬株式会社)

詳しくは当社ホームページ (URL <http://www.wako-chem.co.jp>) をご覧頂くか、当社までお問合せ下さい。

■ 問合せ先 : E-mail seminar@wako-chem.co.jp

大好評
発売中

DsDD cDNA Subtraction kit Wako 発現コピー数の著しく少ない遺伝子の濃縮

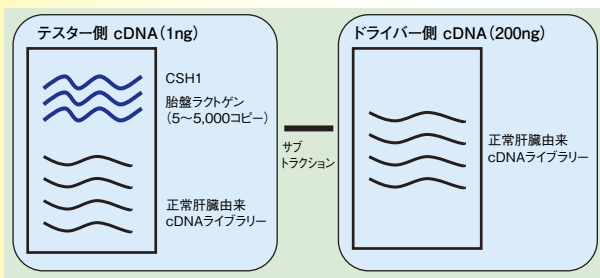
DsDD (Duplex-specific Direct Digestion) cDNA Subtraction Kit Wako (特許出願中) は、cDNA ライブラリーから調製したテスター及びドライバー cDNA を使用して、テスター cDNA 中に特異的に発現している遺伝子を高い効率で濃縮するキットです。

今回、何コピー差があれば濃縮できるかというお客様のご要望に答え、人工的に作製した cDNA を用い検討しました。



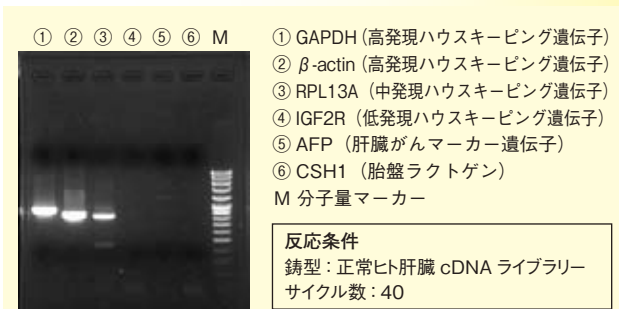
実験

正常ヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーに肝臓で発現していない CSH1 遺伝子を各コピー数 (実験① 5,000 コピー② 500 コピー③ 50 コピー④ 5 コピー) 加え、人工テスター cDNA を作製した。ドライバーには正常ヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーを使用し、サブトラクションを行った後、定量 PCR により、GAPDH および CSH1 のコピー数を算出した。



正常ヒト肝臓での各遺伝子の発現確認

今回用いた CSH1 遺伝子は正常ヒト肝臓 cDNA ライブラリー (男性) で発現していないことを確認した。プライマーは各ターゲット遺伝子向けに設計した。



肝臓がん特異的遺伝子AFP はごく少量発現が確認されたが、CSH1 は全く増幅されていない。

結果

サブトラクション後に GAPDH (ハウスキーピング遺伝子)、CSH1 のコピー数を定量 PCR により算出した。

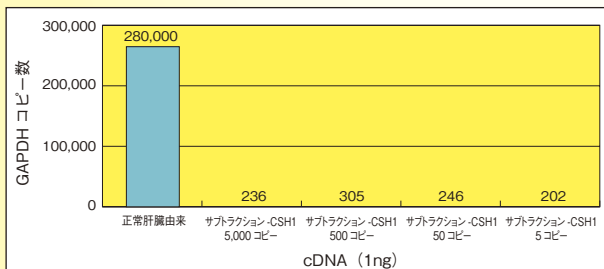


図 1. GAPDH のコピー数

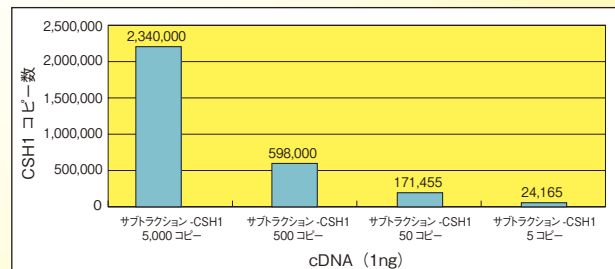


図 2. CSH1 のコピー数

表 1. サブトラクション率データ

	GAPDH サブトラクションコピー数/正常ヒト肝臓コピー数	CSH1 サブトラクションコピー数/添加コピー数
①サブトラクション-CSH1 5,000コピー	0.0008	468
②サブトラクション-CSH1 500コピー	0.0011	1,196
③サブトラクション-CSH1 50コピー	0.0009	3,429
④サブトラクション-CSH1 5コピー	0.0007	4,833

注) サブトラクション後に、CSH1 遺伝子のコピー数が増加しているのは、2 回の PCR を行ったためです。

サブトラクション後の GAPDH のコピー数は約 1/1,000 (図 1) に減少しており、実験①~④すべて十分にサブトラクションされている。実験④での CSH1 のコピー数は 24,165 コピー (図 2) となり、4,833 倍 (表 1) に増加した。GAPDH のコピー数と比べても約 120 倍に上昇しており、発現コピー数の著しく少ない遺伝子であってもハウスキーピング遺伝子よりも大幅にコピー数が上昇することが確認された。

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

眞島 利行 (1874~1962)

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

日本の有機化学の本格的な研究は眞島利行によって始められ、その基礎が築かれた。現在活躍のわが国の有機化学研究者はその系譜を辿れば、多かれ少なかれ、その開拓者眞島利行につながる事が知らされる。眞島は日本のリービッヒであるといえる。

眞島利行は明治7年(1874)11月13日に適塾を出た医家の眞島利民の長男として京都に生まれた。その少年時代は恵まれた環境で育ったが、13歳の時に父が亡くなってから義兄の援助によって学業を続ける境遇となった。まだ鉄道も通じていない時代に東京に出て、神田の予備校共立学校に通って、当時本郷追分にあった第一高等学校に入学した。

専門の道を決める時、亡父の遺産を欺き奪うような人間の多い世間相手の仕事を厭い、自然相手の地質学をまず専攻しようとした。しかしその生来の近視眼が地質学研究の障碍となると考えて、一高時代の久原躬弦の有機化学の講義に魅せられて化学の道を選んだ。

明治29年(1896)に当時、わが国唯一の化学科があった東京大学理学部に進学した。化学科の同級生は7名で、無機化学は英人教師のE.ダイバースDivers、物理化学は桜井錠二、池田菊苗に教わったが当時、師となる有機化学の教授はいなかった。明治32年(1899)に理学部を卒業して、化学科で唯一人の助手になり、その4年後に助教授に任命された。

そのころ眞島は毎日数冊のドイツ化学雑誌を帰宅の時に持ち帰り、ドイツの有機化学大家の論文を読破して、自ら「大研究の研究」と称する勉強を続けた。薬学科には長井長義がドイツから帰国していたが、当時の状況で、その指導を受けることは双方にとって喜ばしくないとして独学の道が続けた。

眞島は自らの研究を始めるに当り、欧米人に先んじられない東洋特産品の有機化学的研究を志して、漆の主成分

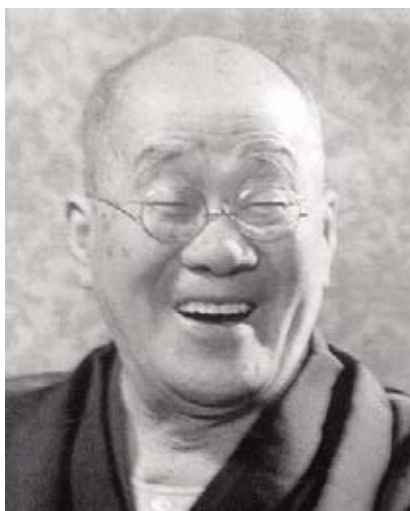


図1. 眞島利行

の研究を思い立った。明治38年(1905)に神奈川県秦野で純生漆を採集して、その乾留によって、カテコールと脂肪族炭化水素を得た¹⁾。

明治39年(1906)になって眞島は、東京大学の化学教室の陣容の都合で、無機化学研究のために欧州留学を命じられた。翌年2月配位説で名が知られていたスイスのA.ウェルナー Werner 教授に就くべくチューリッヒに着いたが、その時、日本の桜井錠二から電報が来て、東北大学の新設が決まったので、有機化学の研究をしてもよろしい



図2. チューリッヒにおける眞島利行(中央)、朝比奈泰彦(左)、柴田雄次(右)

との指令を受けた。

眞島は日本で開始していた漆成分の研究が頭にあったので、その研究を行うのに必要なオゾン分解反応を学ぶためにドイツのキール大学にC.ハリエス Harries 教授の門をたたくことになった。このキール大学に居ること2年半におよび、漆成分ウルシオール(ウルシ)の側鎖二重結合の位置を決めるためのオゾン酸化反応を修得し、さらに新設の東北大学に必要な諸装置に習熟した。

キール大学の後、葉緑素、血色素の研究で有名なスイスのR. M. ウィルシュテッター Willstätter に就いてアニリン黒の研究など染料化学を学び、さらにイギリスのRoyal Institutionで、ジュワー瓶の名で知られるJ. ジュワー Dewar を訪れて半年間の研究を続けて東北大学の開学を待った。

明治44年(1911)に4年間の留学を終えて帰国した眞島は東北帝国大学教授に任ぜられて、新設の化学教室で欧州で得た知識と情報をもとに、欧米の一流実験室に劣らないわが国で最初の本格的な有機化学研究室を立ち上げた。そこにはオゾン分解、真空蒸留、接触還元、加圧還元、遠心分離の諸装置のみならず、硝子工場や加圧給水設備も装備された。それによって東北大学化学教室はわが国有機化学研究の発祥の地と目されるようになった。

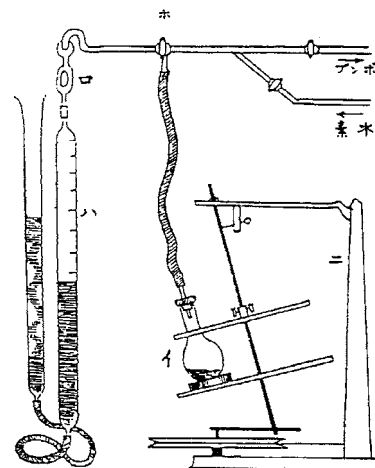


図3. 1912年に眞島が作ったわが国最初の常圧還元装置

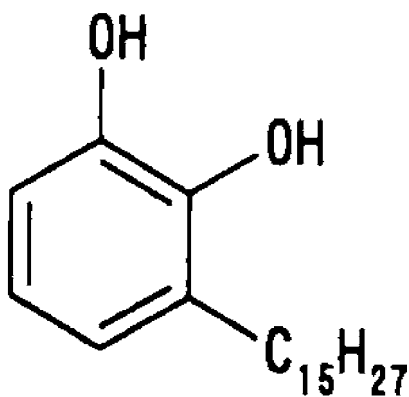


図4. ウルシオールの構造式
(C₁₅側鎖は実際には二重結合を1～3箇所を含む混合物)

ここで眞島は漆成分の構造研究を再開し、当時の最新機器を駆使して、ま

ず還元によってヒドロウルシオールを結晶として得て、カテコールのオルト位に直鎖不飽和アルキル基が結合したウルシオールの構造を決定した²⁾。このウルシオールの研究は明治38年(1905)に開始以来10年余を経て、大正6年(1917)に終了したが、それに対して大正2年(1913)に現在の日本化学会賞に当る桜井賞を、同6年(1917)には帝国学士院賞が授けられた。

眞島はウルシオールの研究の他に、アセチレンにアニリンを付加する独自のインドール合成法³⁾、烏頭属植物のアルカロイドアコニチンの構造⁴⁾、紫根の色素シコニンの構造⁵⁾など多く

の弟子たちとともに行われた天然有機化合物の研究は誠に枚挙に遑がない。さらにその研究は後に感光色素化学、染料化学、高分子化学のわが国へのはじめての導入などへと発展して行った。

このように東北大学の化学教室では日本ではじめての本格的な天然物有機化学の研究が達成されたのみならず、その後のわが国の有機化学を推進する多くの人材が育成、輩出されることになった。その門下生の幾人かを挙げれば、大阪大学総長でわが国のアミノ酸、蛋白質の化学を開拓した赤堀四郎、七員環非ベンゼノイドの最初の化合物ヒノキチオールを発見した野副鉄

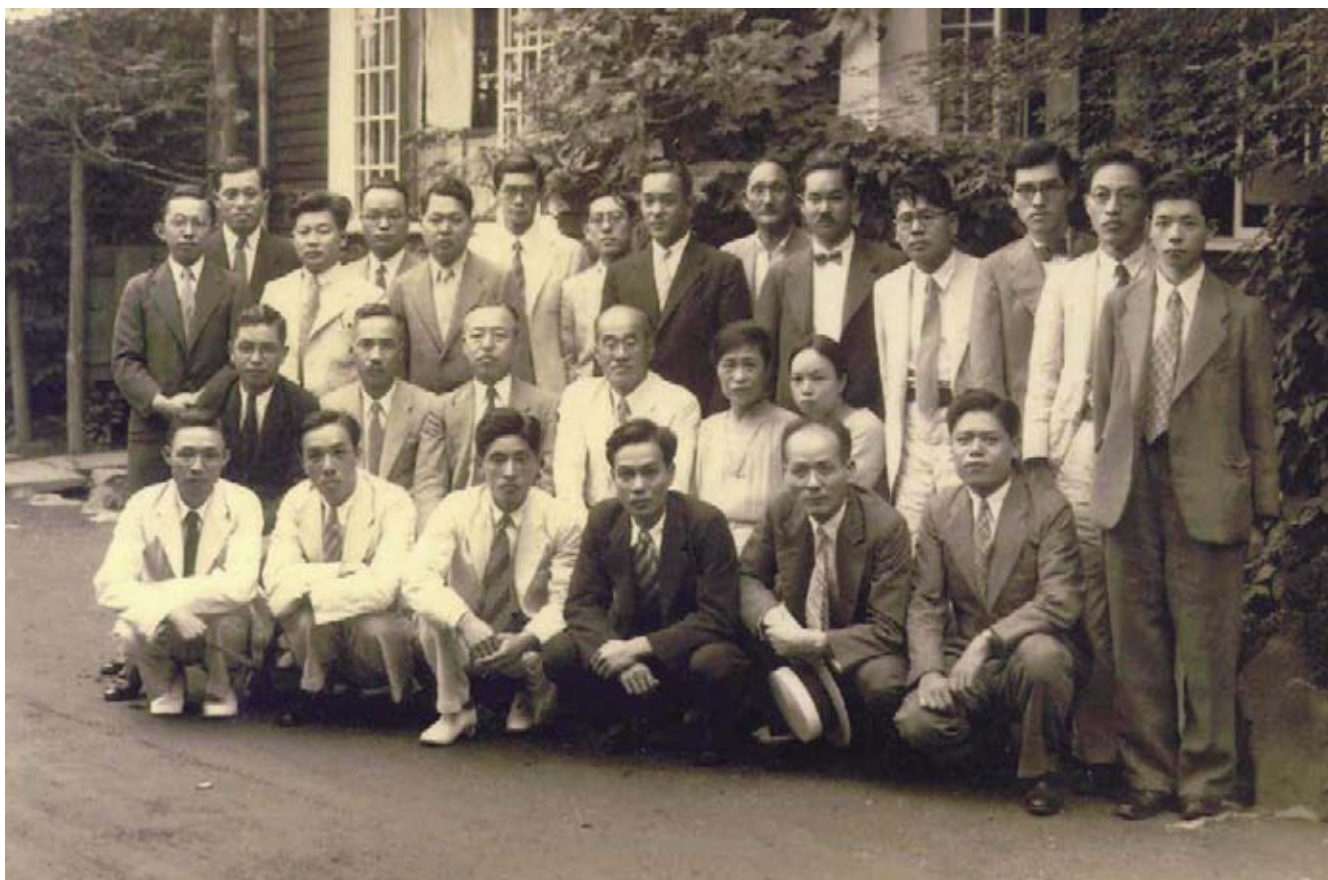


図5. 日本の有機化学を築いた眞島利行とその門下生たち(1937)

左より

〔後列〕：高岡道夫、戸井文一、村橋俊介、田村国三郎、川合眞一、岡原國男、丸山駿一、藤瀬新一郎、樫本竹治、星野敏雄、村上増雄、金子武夫、赤堀四郎、北浦貞夫

〔中列〕：小竹無二雄、丹野恒治、高岡齊、眞島利行、黒田チカ、和田水

〔前列〕：山城誠止、谷久也、小林貞之助、久保田尚志、尾形輝太郎、野副鉄男

男、感光色素の研究を始めた尾形輝太郎、ガマ毒ブフォタリンの研究で知られる小竹無二雄、シコニンその他の植物色素の研究を行った女性化学者黒田チカ、アルカロイドエゼリンの合成を行った星野敏雄、鳥頭アルカロイドアコニチンの研究を行い北海道大学総長になった杉野目晴貞、マツタケの香气成分を解明し高分子化学を拓いた村橋俊介、イボメアマロンなど天然苦味物質の研究を行った久保田尚志などいずれもわが国の有機化学が今日あるための開拓者眞島利行を継ぐ二世代の人々であった。

研究以外にわが国の化学に対する眞島利行の貢献として付け加えねばならないのは『日本化学総覧』の創刊である。明治以来、わが国の化学研究の文献が分類整理されて記録として遺されることは、日本の化学研究の発展のために不可欠であることを痛感した眞島は、大正10年頃よりその抄録誌『日本化学総覧』の発刊を思い立った。しかしこの事業の推進には幾多の困難に遭遇し、啓明会や文部省の財政援助を得たとはいえ、眞島は独力でその難事業を遂行して、昭和2年(1927)から同38年(1963)に至る間に、わが国の明治以来の化学論文348,517件を網羅する抄録集を刊行した。これは財団法人「日本化学研究会」の事業として行われたものであるが、現在は特殊法人「科学技術情報セン

ター JICST」に移譲されて国の事業として「科学技術文献速報」として継続刊行されている。

眞島は東北大学以外にも、大正6年(1917)には理化学研究所に研究員として研究室を持つことになり、昭和4年には新設された東京工業大学の染料化学科の教授を兼任した。行政面では大正15年(1926)に東北帝国大学理学部長に任ぜられ、さらに昭和5年(1930)に新設された北海道帝国大学理学部長になった。昭和8年(1933)にはこれまたその2年前に創設された大阪帝国大学理学部長に補されて、居を仙台から大阪に移し、多くの門下生を引き連れて大阪大学に新しい有機化学の拠点を築いた。昭和14年(1939)には大阪における理化学研究所を標榜する施設として産業科学研究所を大阪大学内に附置することに尽力し、その初代所長に就任した。昭和18年(1943)には第3代大阪帝国大学総長に任命されて、戦時下の大学を守った。

戦後の昭和21年(1946)にはすべての職を退いて、以後兵庫県宝塚の私邸で余生を送り、昭和37年(1962)8月19日に87歳の生涯を閉じた。昨年その生涯の業績をまとめた故久保田尚志著の『日本有機化学の開拓者眞島利行』が出版された⁶⁾。その他の眞島利行についての伝記を文献欄に挙げておく^{7,8)}。



図7. 大阪大学総長時代の眞島利行 (市原硬画)

【参考文献】

- 1) 眞島利行、長俊一：東京化学会誌, 28, 1225 (1907).
- 2) Majima, R.: Ber., 55, 172 (1922).
- 3) Majima, R. and Aoki, Y.: Ber., 44, 3080 (1911).
- 4) 眞島利行：「我生涯の回顧」, 化学の領域, 8 (1), 1 ; (3), 137 (1954).
- 5) 黒田チカ：日本薬劑協会誌, 11, 26 (1959).
- 6) 久保田尚志：「日本の有機化学の開拓者眞島利行」, 東京化学同人製作, (私家版)(2005).
- 7) 「特集眞島利行博士米寿記念」, 化学の領域, 15 (11), 891 (1961).
- 8) 芝哲夫：「第三代総長眞島利行」『大阪大学歴代総長餘芳』53, (大阪大学出版会)(2004).



図6. 眞島利行の川合玉堂(川合眞一 父)宛書簡

各種細胞培養にご利用下さい!

細胞培養用 液体培地

細胞培養用液体培地の販売を開始しました。第1弾として、D-MEMやRPMI-1640などの汎用液体培地及びHBSS(-)、D-PBS(-)を発売しました。各種細胞の培養にご利用下さい。

液体培地

■ **D-MEM (High Glucose)** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

Dulbeccoらによって改変されたMEM培地で、グルコース含量は4,500mg/lの高グルコースタイプです。広範囲の哺乳類細胞の培養に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

■ **D-MEM (Low Glucose)** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

Dulbeccoらによって改変されたMEM培地で、グルコース含量は1,000mg/lの低グルコースタイプです。広範囲の哺乳類細胞の培養に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

■ **MEM α** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

イーグル基礎培地を改良した培地です。広範囲な哺乳類細胞に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

平衡塩

細胞培養に使用する平衡塩溶液です。細胞内外の浸透圧平衡を維持しながら洗浄や希釈などを行うために使用します。

■ **HBSS(-)** (フェノールレッド含有)

ハンクス処方 of 平衡塩溶液です。Ca²⁺、Mg²⁺は不含です。

保存条件：2～10℃保存



■ **RPMI-1640** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

正常ヒト造血細胞の培養のために作製された培地です。広範囲の浮遊細胞に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

■ **Ham's F-12** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

チャイニーズハムスター細胞の少数細胞培養用に開発された培地です。広範囲の接着細胞に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

■ **D-MEM / Ham's F-12** (L-グルタミン、フェノールレッド含有)

D-MEMとHam's F-12を1:1に混合した培地です。広範囲の哺乳類細胞に使用されます。

保存条件：2～10℃保存

■ **D-PBS(-)**

ダルベッコ処方の平衡塩溶液です。Ca²⁺、Mg²⁺は不含です。

保存条件：25℃保存

■ **10 × D-PBS(-)**

保存条件：25℃保存

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
044-29765	D-MEM (High Glucose) with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
041-29775	D-MEM (Low Glucose) with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
135-15175	MEM α with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
189-02025	RPMI-1640 with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
087-08335	Ham's F-12 with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
048-29785	D-MEM / Ham's F-12 with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
084-08345	HBSS(-) with Phenol Red	細胞培養用	500 ml	1,200
045-29795	D-PBS(-)	細胞培養用	500 ml	1,200
048-29805	10 × D-PBS(-)	細胞培養用	500 ml	2,300

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. 74 No. 3
2006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 共進社印刷株式会社

- 和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。
E-mail 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