

〔総説〕

「炭素-炭素結合形成に便利で使い易い有機ケイ素反応剤」

檜山 爲次郎 …… 2

「ナットウキナーゼの合成アミドに対する基質特異性、並びにキニン産生能（血圧降下、循環改善）」

須見 洋行 …… 8

「新規核酸誘導体 2-Cl-C.OXT-A の血管新生作用」

塚本 郁子 …… 11

〈テクニカルレポート〉

「バイオマス糖化を効率化する酵素」

鹿島 康浩 …… 14

「試料前処理用固相抽出カラム Presep® RPP-WAX の開発」

竹中 智子 …… 16

〔化学大家〕

「ロバート・ボイル」

島尾 永康 …… 32

〔製品紹介〕

有機合成

- 檜山カップリング反応試薬「HOMSi」 …… 7
 高分子固定化オスミウム触媒「PI酸化オスミウムII型」 …… 36

環境・分析

- プレセップ® RPP-WAX …… 17
 不揮発性腐敗アミン類標準品 …… 18
 シブトラミン・シブトラミン代謝物標準品 …… 18
 TRM (Traceable Reference Material) …… 18
 高純度有機溶剤及び酸類 (SC 規格) …… 19

培養

- ES 細胞培養用試薬「StemSure™ シリーズ」 …… 20
 液体培地 …… 21
 植物発現組換え体 ヒトトランスフェリン、ヒトアルブミン …… 22
 細胞増殖因子 …… 23

免疫

- 抗ラットジアシルグリセロールキナーゼ γ , ウサギ …… 19
 タマジジン®2, 組換え体 …… 27
 抗 6×His, モノクローナル抗体 …… 28
 タグ抗体ビーズ、タグペプチド …… 28

細胞生物・生化学

- ナットウキナーゼ …… 10
 血管新生促進剤「2-Cl-C.OXT-A」 …… 13
 GSK-3 阻害剤 …… 21
 Wnt-3a, マウス, 組換え体, 溶液 …… 21
 病態モデル作製用試薬 …… 24
 VEGF レセプターキナーゼ阻害剤 …… 24
 がん研究用試薬 …… 25
 フコキサンチノール …… 26
 アスタキサンチン …… 26

遺伝子

- 3-メルカプト-1,2-プロパンジオール …… 27
 トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩 …… 27
 2×RNA ローディングバッファー …… 29
 スーパーセップ™ RNA …… 30
 RNA 抽出試薬「ISOGEN II」 …… 31

〔お知らせ〕

- 耐熱性酵素有償サンプルのご案内 …… 15
 第 26 回 Wako ワークショップ開催のご案内 …… 23

- キナーゼ阻害剤ガイドブック発行のご案内 …… 26

はじめに

交差カップリング反応が広く使われるようになった。通常の置換反応が難しい sp^2 炭素や sp 炭素での置換が遷移金属触媒で直接的に一工程で達成できるからであり、天然物の全合成をはじめ医薬品や農薬など生理活性物質のほか液晶や発光材料など有機機能材料の工業的製造にいたるまで幅広く利用されている。これまでMg、Zn、B、Sn剤が多用されてそれぞれ人名反応¹⁾になっている。大量合成に利用されるようになると、コスト、金属反応剤の安定性の欠如、大量使用の際に副生する金属の回収や反応剤の毒性が問題になってきた。この点、ケイ素は資源的に豊富であるうえ、有機ケイ素化合物は安定性や安全性に優れていて、これらの問題を一挙に解決する望ましい特性をもつが、反応性が低く使えなかった²⁾。1988年、著者らは四配位ケイ素化合物にフッ化物イオンを作用させて五配位シリカートを形成させるとパラジウムとの金属交換が円滑に進むことを見つけ、安定な四配位有機ケイ素化合物が一般的な交差カップリング反応に利用できることを示した³⁾。この反応の重要性が次第に広く認識されるとともに⁴⁾、初期型手法の欠点を改良して、より使いやすい手法が提案されてきた。例えば、金属交換は五配位シリカートを介する必要があるが、初期型手法では、ケイ素原子に電気陰性基を置換させてケイ素にルイス酸性を十分も

たせていた。これに対しシラシクロブタン構造⁵⁾やヘテロ芳香環⁶⁾、ベンジル基⁷⁾、アリル基⁸⁾を導入したりシラノラート塩を用いる方法⁹⁾が開発された(図1)。

この反応は、Pd(0) 錯体が基質 R^2X に酸化付加した $R^2-Pd(II)-X$ が、五配位シリカートとの間で有機基 R^1 をSiからPdに移し(金属交換)、生じた R^1-Pd-R^2 が還元的脱離によって生成物を生じるとともにもとのPd(0) 錯体に戻る触媒サイクル^{4d)}で進むと理解している。

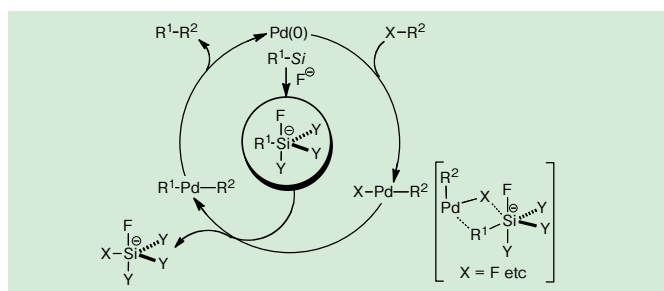
スキーム1に示すように、五配位シリカートが4中心遷移状態(ここでは飽和の六配位を経る)を経て金属交換するので、これの生成が鍵になる。2005年に2-(ヒドロキシメチル)フェニル基置換ケイ素反応剤 $1\sim 5$ の交差カップリング反応^{10a)}を公にした。反応させる有機基と五配位シリカート形成を担う2-(ヒドロキシメチル)フェニル基を分離¹⁾することによって、テトラオルガノシリランで一般性に優れた交差カップリングを実現するための理想的反応剤設計である。

ケイ素反応剤 $1\sim 5$ (スキーム2)は、普段は安定だが弱い塩基によってPd、Cu、Rhなどの後周期遷移金属錯体と金属交換して、交差カップリング¹⁰⁾やカルボニル付加¹¹⁾を達成する；反応後にSi部位を環状シリルエーテル 6 として回収し、ケイ素反応剤の再調製に利用できる；また、水酸基保護によりケイ素基は極めて安定になるので、保護/脱保護を経れば多段階の合成にも使える、などの特徴がある。

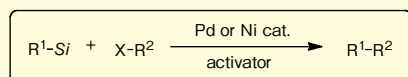
1 アルケニルシリランの交差カップリング

一例をあげる。(E)-オクテニルシリランと4-ヨウ化安息香酸エチルとの反応では、溶媒DMSO中35℃でPdCl₂触媒および配位子(2-furyl)₃P存在下、炭酸カリウムを塩基として用いるだけで、対応するカップリング体が収率97%で得られる。反応粗生成物を減圧蒸留すると、環状シリルエーテル 2 ($R^2 = Me, R^3 = H$)が回収できる(図2)。

この反応では、ケイ素反応剤の活性化にフッ化物イオンや強塩基を必要としないので、シリル保護基や酸性水素



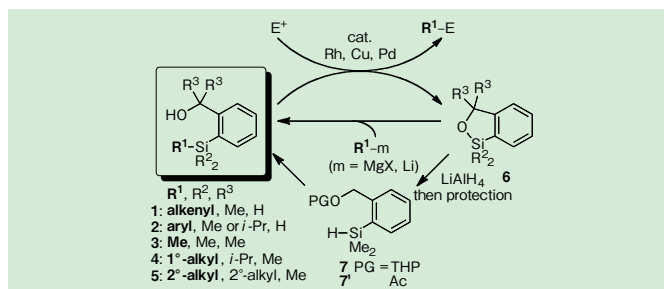
Scheme 1. Catalytic cycle for silicon cross-coupling reaction



R ¹	Si
vinyl, alkynyl, silyl	SiMe ₃
alkenyl, aryl (R = H, alkyl)	SiMe ₂ F, SiMe _m (OR) _n
aryl (R = Et, n-Pr, Cy)	SiRF ₂
allyl (R = Ph)	
alkyl, allyl	SiF ₃

R² = aryl, alkenyl, alkyl, allyl
X = Cl, Br, I, OTf, OTs, OMs

Figure 1.



Scheme 2. Transition metal-catalyzed C-C bond formation with tetraorganosilane reagents via intramolecular activation

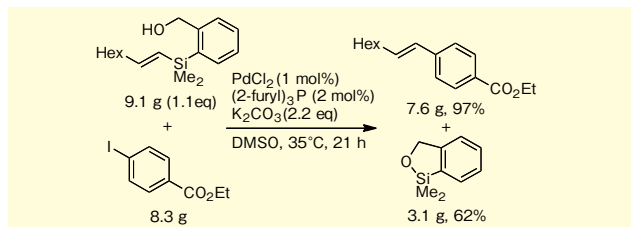


Figure 2.

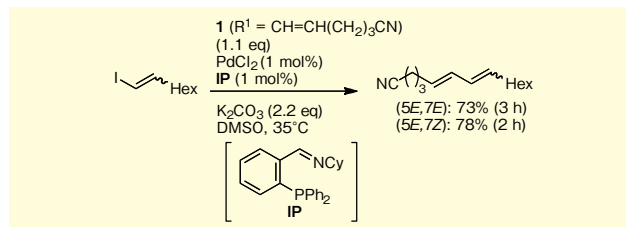


Figure 4.

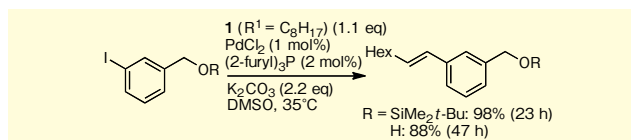


Figure 3.

を有する基質を用いても収率よくカップリング体が得られる点が有利である (図3)。

(*E*)-および (*Z*)-ヨウ化オクテニルとの反応では、イミノホスフィン配位子 (**IP**)¹²⁾ が有効で、対応するジエンを立体配置を保持したまま立体特異的に収率よく得ることができる (図4)。

また、1-フェニルエチルシラン **1** ($R^1 = \text{CH}_2 = \text{CPh}$) もヨードアニソールと反応して ipso 置換体を収率よく生じる。このハロゲン化物ではしばしば cine 置換体が相当量生じる¹³⁾ が、**1** は高い反応性と反応位置特異性を示すので信頼性が極めて高い。

2 アリールシランの交差カップリング

フェニルシラン **2** ($R^1 = \text{Ph}$) とハロゲン化アリールとの交差カップリングは、Pd 触媒 Ruphos¹⁴⁾ 配位子とともに CuI 共存下 THF-DMF 混合溶媒中で収率よくビフェニルを生じる (図5)。

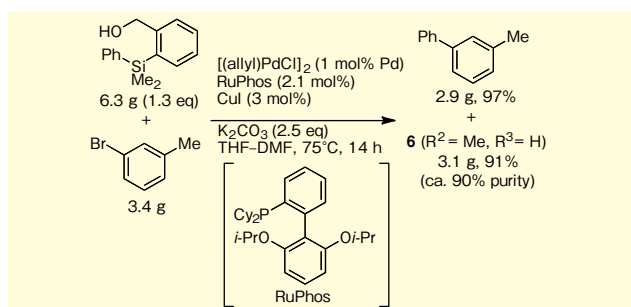


Figure 5.

スタニル基やボリル基を置換する臭化フェニルとの反応でも、炭素-ケイ素結合が優先して活性化されてスタニル化あるいはボリル化ビフェニルが収率よく得られる点は注目に値する (図6)。

この交差カップリング反応は、ケイ素反応剤の水酸基を保護しておくとおこなわない。そこで、水酸基を THP 基で保護した同シリル基を有するハロゲン化アリールを、水酸基のままのプロモアリールシラン反応剤と反応させ、反応終了後に THP 基を除去すると、末端に [(2-ヒドロキシメチル)フェニル]ジメチルシリル基を有するビアリールを合成することができる^{10e, 10f)}。この交差カップリング/脱保護を繰り返すと、オリゴアレーンをきわめて簡便に合成することができる (スキーム3)。

異なる保護基 (THP、Ac、TBDPS) を三つ用いると、それぞれ独特の条件下に脱保護できる。これら三つを末端に有するオリゴアレーンも合成できる

3 アルキルシランの交差カップリング^{10g)}

アルキルシランの交差カップリン

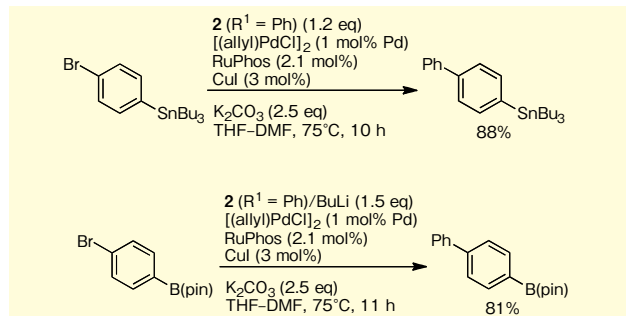
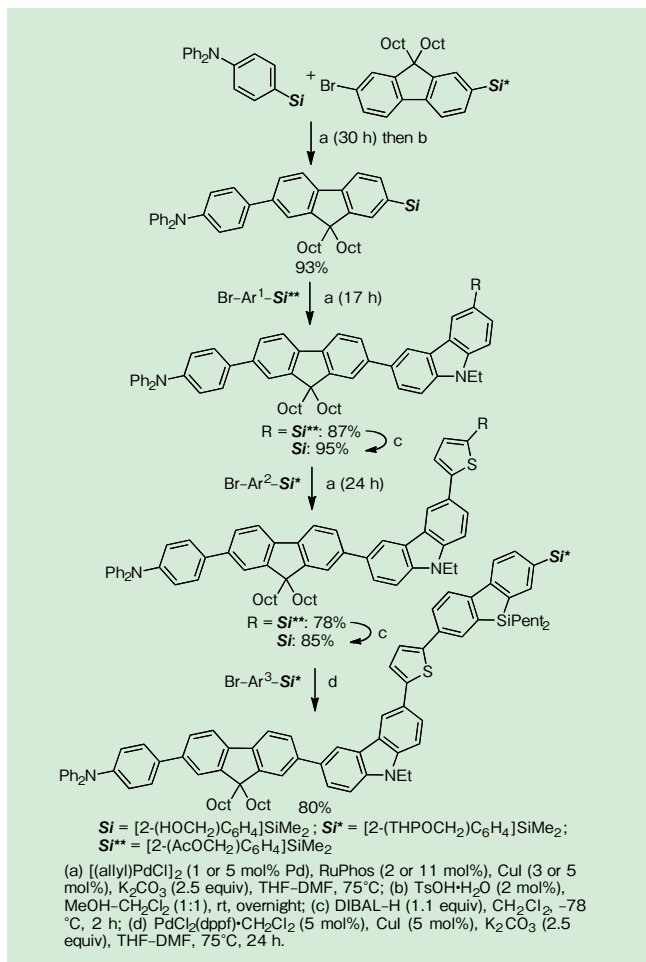


Figure 6.

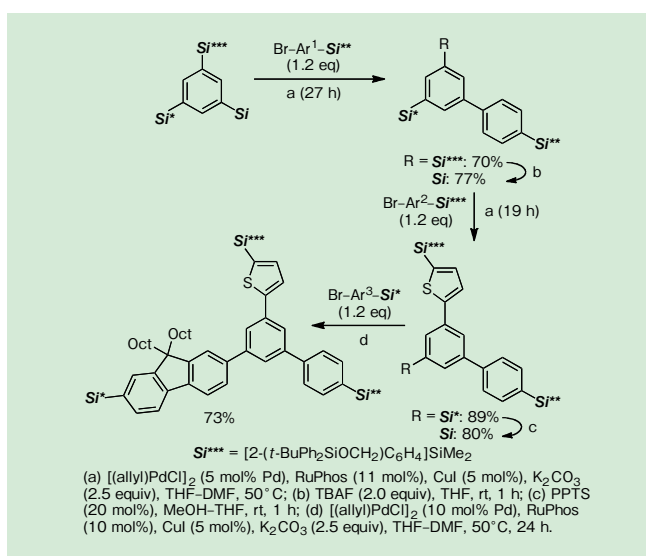
(スキーム4)^{10f)}。

こうして目的分子の部分構造を構築順に合わせて任意の保護基を選択できる。また、生じたシリル化オリゴアレーンは、きわめて安定なので、一層の官能基化もできる。すべて有機基で置換されたシリル基によって分子の溶解性が向上しているため、反応、後処理、精製操作上のメリットも大きい。例えば、シリルビチオフェンの5'位臭素化が収率よく進行する。得られた臭素化体と、脱保護した5-シリルビチオフェンを交差カップリングさせると、末端にシリル基を有するテトラチオフェンが収率よく得られる。この操作を繰り返せば、両端にケイ素官能基をもつキンカーチオフェンが効率よく合成できる^{10e, 10f)} (スキーム5)。これはホログラフィー記録材料としての用途が期待されている材料^{10h)} である。

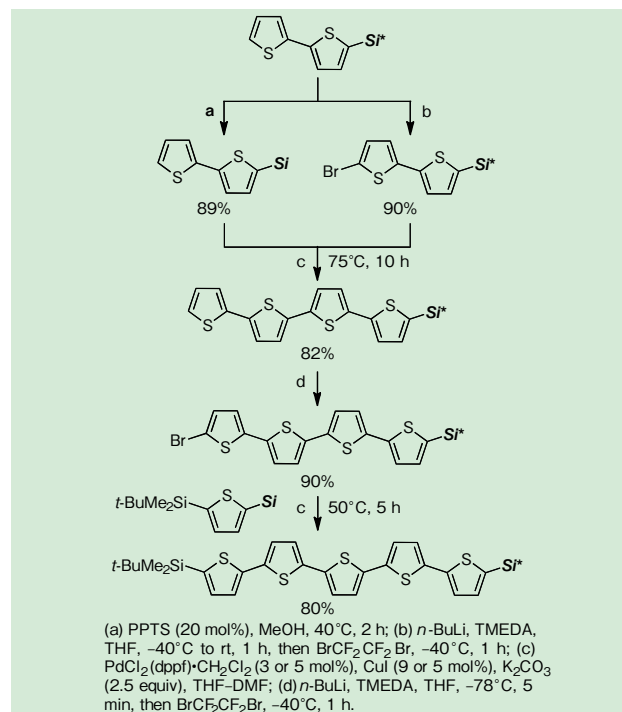
ベンジル炭酸エステルとのカップリングでは、塩基を加えなくても進行し、ジアリールメタンを収率よく生成する^{10d)} (図7)。



Scheme 3. Iterative cross-coupling-deprotection sequence for oligoarene synthesis



Scheme 4. Iterative cross-coupling-deprotection by orthogonal protection



Scheme 5. Convergent synthesis of silylated oligothiophene

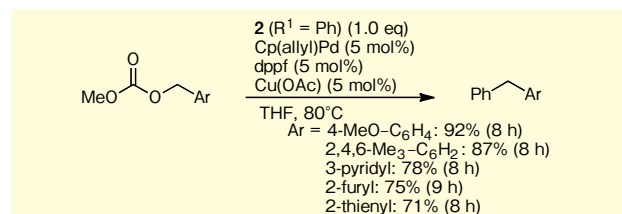


Figure 7.

グは、これまでアルキル(トリフルオロ)シランを用いる例に限られていた¹⁵⁾。まずメチル化を検討した。Pd(OAc)₂存在下、配位子QPhos¹⁶⁾、塩基リン酸三カリウムを用いて、THF中100°Cでトリメチルシラン $\mathbf{3}$ と4-クロロベンゼンニトリルを反応させると、*p*-トルニトリルがNMR収率88%で得られる。 $\mathbf{3}$ のベンジル位にメチル基が二つないと、メチル化体は全く得られず、ヒドロキシメチル基が酸化されてアルデヒドが生じ、同時にこの水素が塩化アリールを還元したものが多量生じた。各種臭化および塩化アリールのメチル化^{10g)}が収率よく進行する(図8)。

つづいてブチルカップリング^{10g)}を検討した。反応させるアルキル基を区

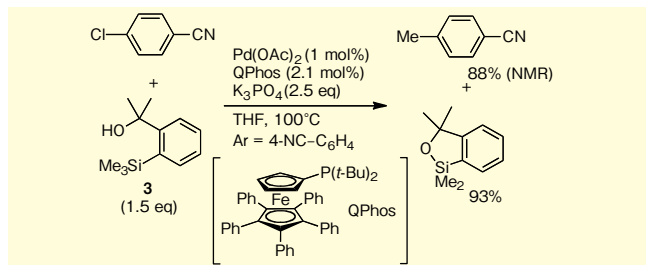


Figure 8.

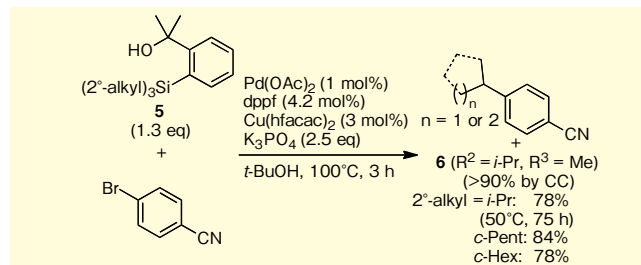


Figure 10.

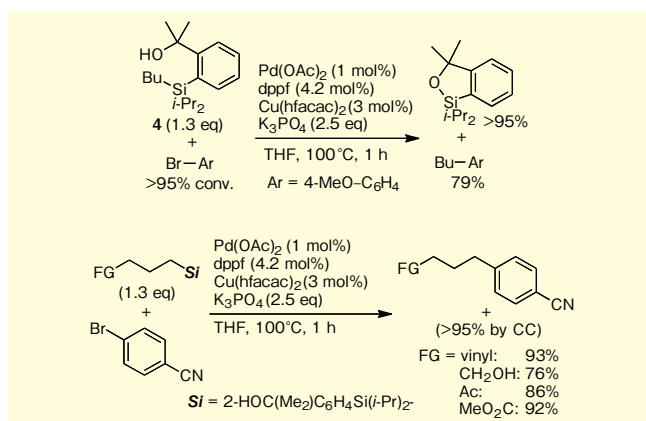


Figure 9.

別するために、ケイ素上に第二級アルキルであるイソプロピル基をダミーとして導入した **4** ($R^1 = \text{Bu}$) を調製した。Pd(OAc)₂、dppf配位子¹⁷⁾、Cu(hfacac)₂とリン酸三カリウムを用い、THF中100°Cで **4** ($R^1 = \text{Bu}$) と4-ブロモアニソールを1時間反応させたところ、ブチル化体が収率よく得られることがわかった。Cu(II) 共触媒が共存しないとブチル化は全くおこらず、水酸基のアリール化とシリル基のBrook転位がおこるだけであった。いろいろな官能基を有するアルキルシランの交差カップリング反応も収率よく進行する (図9)。

第二級アルキルシランの交差カップリングは、溶媒 *t*-BuOHを用いると、ハロゲン化アリールのイソプロピル化、シクロペンチル化やシクロヘキシル化を実現できる。ケイ素反応剤を用いて第二級アルキル基をカップリングさせる方法として、クロチルシランの γ 位選択的な交差カップリング^{9d, 18)} 以外には例がない (図10)。

4 交差カップリングの反応機構

パラジウムおよび銅触媒を用いる交差カップリング反応では、求電子剤のPd(0)への酸化的付加に続く金属交換反応では、まずR¹のSiからCuへの金属交換が起こり、生じた有機銅とPdに金属交換すると考えている。アルケニルシランやメチルシランの反応では、SiからPdに直接金属交換が円滑に進行していると考えている。

5 ロジウム触媒によるカルボニル付加¹²⁾

1997年に報告されたロジウム触媒を用いる有機ホウ素反応剤のカルボニル付加反応は、官能基許容性にきわめて優れた炭素—炭素結合形成反応として注目され、翌年エナンチオ選択的反応が達成されて、広く利用されるようになった。この反応に有機ケイ素反応剤を利用する研究も、2001年から公になるが、反応に利用できるケイ素反

応剤はシラノールやアルコキシシラン、クロロシランなど電子求引基をケイ素にもつため、反応剤の安定性が乏しいうえ、反応条件が比較的過酷であった。2-(ヒドロキシメチル)フェニル基置換ケイ素反応剤のロジウム触媒反応^{19, 20)}への応用を検討したところ、フェニルシラン ($R^1 = \text{Ph}$) は、汎用されているフェニル(トリメトキシ)シランと比べると格段に反応活性であり、フェニルボロン酸とほぼ同等の反応性を示すことがわかった。

アルケニルシラン **1** とシクロヘキサノンのグラム規模の反応も当量反応でも収率よく進行し、環状シリルエーテル **2** ($R^2 = \text{Me}$, $R^3 = \text{H}$) も良好な収率で回収できる (図11)。

林 民生教授と共同で光学活性ジェン配位子²¹⁾を用いる不斉合成を検討した結果、高いエナンチオ選択性で共役付加体が得られることがわかった。医薬中間体であるピペリジン誘導体を高エナンチオ選択的に合成することができる^{11b)} (図12)。

α 位に置換基を有するビニルボロン酸は不安定で使えないが、対応するアルケニル型HOMSi反応剤は高いエナンチオ選択性で進行する。これを β -シリル置換エノンとの反応に適用すると光学活性アリルシランの新しい合成法^{11b)}が可能になる (図13)。

イミンへのアルケニル型HOMSi反応剤の1,2-付加も良好なエナンチオ選択性で進行し、合成中間体として有用な光学活性多置換アリルアミン^{11d)}が得られる (図14)。

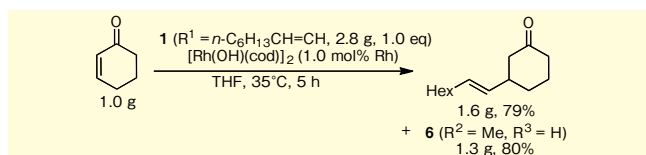


Figure 11.

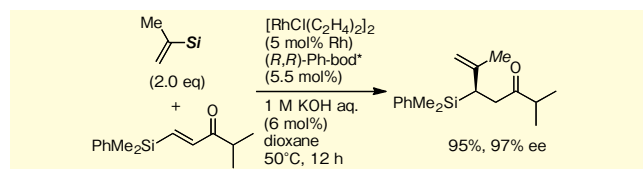


Figure 13.

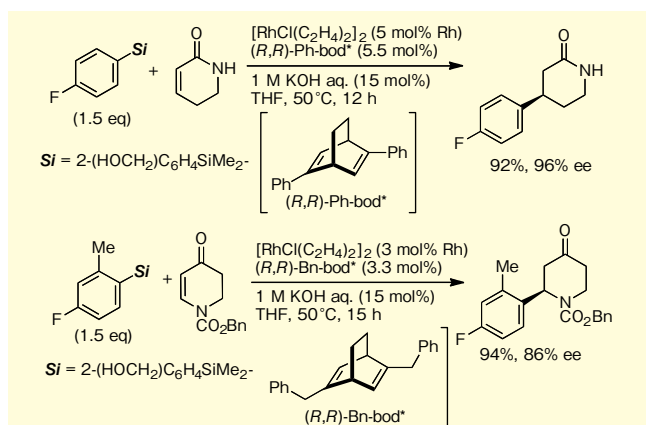


Figure 12.

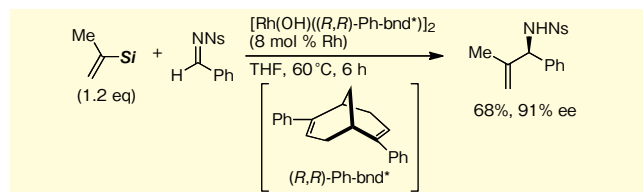


Figure 14.

おわりに

ケイ素反応剤 1~5 は、安定なテトラオルガノシラン構造をしていてもアルコール酸素の分子内求核攻撃によって遷移金属錯体との金属交換を穏和な条件で円滑におこし、交差カップリングやカルボニル付加などの反応に利用できる。このケイ素反応剤の保護型は、いろいろな官能基変換に耐えるので、種々分子変換と水酸基の保護・脱保護を随時おこなう合成計画に大きな柔軟性を与える。しかもケイ素部は回収・再使用が可能であり、グリーンケミストリーの視点からも有利である。2010年になって和光純薬から各種が市販されている。今後幅広い有機合成に利用されるだろう。最近ホウ素とは異なる立体選択性を示す例が報告された²²⁾。炭素-炭素結合形成の新反応への利用が大いに期待できる。同様の分子内活性化を利用するケイ素反応剤が玉尾²³⁾やBrown²⁴⁾らも報告していることに注目したい。

謝 辞

ここで述べた研究は、京都大学大学院工学研究科材料化学専攻中尾佳亮助教を中心とする引用文献記載の諸氏の努力と創意の賜物であり、彼らの貢献に感謝する。研究助成をいただいた、京都大学、日本学術振興会および文部科学省に御礼申しあげる。また市販に際して広田知紀氏にご尽力いただいたことに深謝している。

【参考文献】

- (a) "Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions" ed. by de Meijere, A., Diederich, F., Wiley-VCH, Weinheim (1998); (b) "Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions, 2nd ed." ed. by de Meijere, A., Diederich, F., Wiley-VCH, Weinheim (2004).
- 有機ペンタフルオロシリケートが交差カップリング反応に利用されたが、限定的であった。Yoshida, J., Tamao, K., Yamamoto, H., Kakui, T., Uchida, T. and Kumada, M.: *Organometallics*, **1**, 542 (1982).
- Hatanaka, Y. and Hiyama, T.: *J. Org. Chem.*, **53**, 918 (1988).
- (a) Hiyama, T. and Shirakawa, E.: *Top. Curr. Chem.*, **219**, 61 (2002); (b) Denmark, S. E. and Sweis, R. F.: "Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions, 2nd ed." ed. by de Meijere, A., Diederich, F., Wiley-VCH, Weinheim, p 163 (2004); (c) Tsuji, J.: "Palladium Reagents

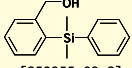
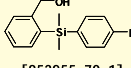
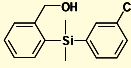
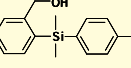
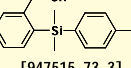
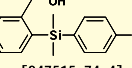
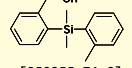
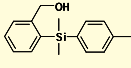
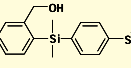
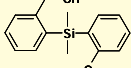
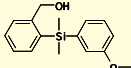
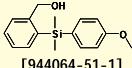
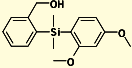
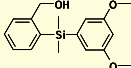
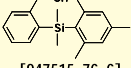
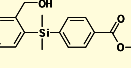
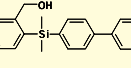
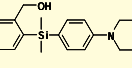
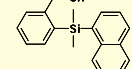
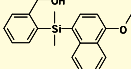
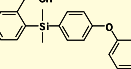
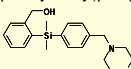
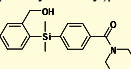
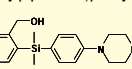
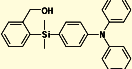
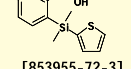
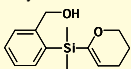
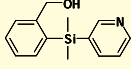
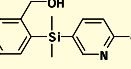
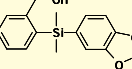
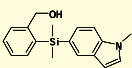
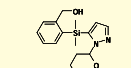
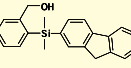
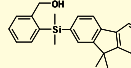
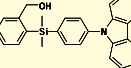
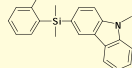
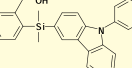
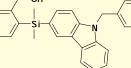
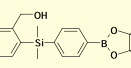
and Catalysts", Wiley, Chichester, p 338 (2004); (d) ケイ素反応剤による交差カップリング反応機構の理論的考察が種らによってなされている。Sugiyama, A., Ohnishi, Y., Nakaoka, M., Nakao, Y., Sato, H., Sakaki, S., Nakao, Y. and Hiyama, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 12975 (2008); (e) 最新の総説: 檜山爲次郎: 有合成, **68**, 729 (2010).

- Denmark, S. E. and Choi, J. Y.: *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 5821 (1999).
- (a) Itami, K., Nokami, T. and Yoshida, J.-i.: *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 5600 (2001); (b) Hosoi, K., Nozaki, K. and Hiyama, T.: *Proc. Japan Acad. Ser. B*, **78**, 154 (2002); (c) Katayama, H., Taniguchi, K., Kobayashi, M., Sagawa, T., Minami, T. and Ozawa, F.: *J. Organomet. Chem.*, **645**, 192 (2002); (d) Anderson, J. C. and Munday, R. H.: *J. Org. Chem.*, **69**, 8971 (2005).
- Trost, B. M., Machacek, M. R. and Ball, Z. T.: *Org. Lett.*, **5**, 1895 (2003).
- Sahoo, A. K., Oda, T., Nakao, Y. and Hiyama, T.: *Adv. Synth. Catal.*, **346**, 1715 (2004).
- (a) Denmark, S. E. and Kallemejn, J. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15958 (2006); (b) Denmark, S. E., Smith, R. C. and Tymonko, S. A.: *Tetrahedron*, **63**, 5730 (2007); (c) Denmark, S. E., Baird, J. D. and Regens, C. S.: *J. Org. Chem.*, **73**, 1440 (2008); (d) Denmark, S. E. and Wemer, N. S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 16382 (2008); (e) Denmark, S. E., Smith, R. C., Chang, W. T. T. and Muhuji, J. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 3104 (2009).
- (a) Nakao, Y., Imanaka, H., Sahoo, A. K., Yada, A. and Hiyama, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 6952 (2005); (b) Nakao, Y., Sahoo, A. K., Yada, A., Chen, J. and Hiyama, T.: *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **7**, 536 (2006); (c) Nakao, Y., Imanaka, H., Chen, J., Yada, A. and Hiyama, T.: *J. Organomet. Chem.*, **692**, 585 (2007); (d) Nakao, Y., Ebata, S., Chen, J., Imanaka, H. and Hiyama, T.: *Chem. Lett.*, **36**, 606 (2007); (e) Nakao, Y., Chen, J., Tanaka, M. and Hiyama, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 11694 (2007); (f) Chen, J., Tanaka, M., Takeda, M., Sahoo, A. K., Yada, A., Nakao, Y. and Hiyama, T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **83** (5), 554-569 (2010); (g) Nakao, Y., Takeda, M., Matsumoto, T. and Hiyama, T.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 4447

- (2010); (h) Shimizu, M., Schelper, M., Mochida, K., Hiyama, T., Adachi, M., Sasaki, Y., Akiyama, S., Maeda, S., Kanbara, H., Mori, Y. and Kurihara, T.: *Adv. Mater.*, **19**, 1826-1829 (2007).
- 11) (a) Nakao, Y., Chen, J., Imanaka, H., Hiyama, T., Ichikawa, Y., Duan, W. L., Shintani, R. and Hayashi, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 9137 (2007); (b) Shintani, R., Ichikawa, Y., Hayashi, T., Chen, J., Nakao, Y. and Hiyama, T.: *Org. Lett.*, **9**, 4643 (2007); (c) Nakao, Y., Takeda, M., Chen, J., Hiyama, T., Ichikawa, Y., Shintani, R. and Hayashi, T.: *Chem. Lett.*, **37**, 290 (2008); (d) Nakao, Y., Takeda, M., Chen, J. and Hiyama, T.: *Synlett*, 774 (2008).
- 12) Shirakawa, E., Yoshida, H. and Takaya, H.: *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3759 (1997).
- 13) Hatanaka, Y., Goda, K.-i. and Hiyama, T.: *J. Organomet. Chem.*, **465**, 97 (1994).
- 14) Milne, J. E. and Buchwald, S. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 13028 (2004).
- 15) Matsuhashi, H., Asai, S., Hirabayashi, K., Hatanaka, Y., Mori, A. and Hiyama, T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 437 (1997).
- 16) Kataoka, N., Shelby, Q., Stambuli, J. P. and Hartwig, J. F.: *J. Org. Chem.*, **67**, 5553 (2002).
- 17) Hayashi, T., Konishi, M., Kobori, Y., Kumada, M., Higuchi, T. and Hirotsu, K.: *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 158 (1984).
- 18) Hatanaka, Y., Ebina, Y. and Hiyama, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 7075 (1991).
- 19) Sakai, M., Hayashi, H. and Miyaura, N.: *Organometallics*, **16**: 4229 (1997).
- 20) Takaya, Y., Ogasawara, M., Hayashi, T., Sakai, M. and Miyaura, N.: *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 5579 (1998).
- 21) Shintani, R. and Hayashi, T.: *Aldrichimica Acta*, **42**, 31 (2009).
- 22) (a) Saito, N., Yamazaki, T. and Sato, Y.: *Tetrahedron Lett.*, **49**, 5073 (2008); (b) Saito, N., Yamazaki, T. and Sato, Y.: *Chem. Lett.*, **38**, 594 (2009).
- 23) Son, E.-C., Tsuji, H., Saeki, T. and Tamao, K.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **79**, 492 (2006).
- 24) Rauf, W. and Brown, J. M.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 4228 (2008).

檜山カップリング反応試薬 (HOMSi)

株式会社ワコーケミカル

<p>HOMSi Phenyl</p>  <p>[853955-69-8]</p> <p>356-17401 1g 5,500 352-17403 5g 17,000</p>	<p>HOMSi p-Fluorophenyl</p>  <p>[853955-70-1]</p> <p>357-17431 1g 6,500 353-17433 5g 21,000</p>	<p>HOMSi m-Chlorophenyl</p>  <p>[359-18231]</p> <p>359-18231 1g 7,000 355-18233 5g 22,000</p>	<p>HOMSi p-Chlorophenyl</p>  <p>[357-17811]</p> <p>357-17811 1g 6,500 353-17813 5g 21,000</p>	<p>HOMSi p-Bromophenyl</p>  <p>[947515-73-3]</p> <p>350-17921 1g 9,300 356-17923 5g 33,000</p>	<p>HOMSi p-Cyanophenyl</p>  <p>[947515-74-4]</p> <p>353-17891 1g 9,500 359-17893 5g 35,000</p>
<p>HOMSi o-Methylphenyl</p>  <p>[853955-71-2]</p> <p>351-18051 1g 6,500 357-18053 5g 21,000</p>	<p>HOMSi p-Methylphenyl</p>  <p>[359-17991]</p> <p>359-17991 1g 6,000 355-17993 5g 19,000</p>	<p>HOMSi p-(Methylthio)phenyl</p>  <p>[356-17901]</p> <p>356-17901 1g 6,500 352-17903 5g 21,000</p>	<p>HOMSi o-Methoxyphenyl</p>  <p>[355-18331]</p> <p>355-18331 1g 6,500 351-18333 5g 21,000</p>	<p>HOMSi m-Methoxyphenyl</p>  <p>[352-18341]</p> <p>352-18341 1g 6,500 358-18343 5g 21,000</p>	<p>HOMSi p-Methoxyphenyl</p>  <p>[944064-51-1]</p> <p>353-17411 1g 6,000 359-17413 5g 19,000</p>
<p>HOMSi 2,4-Dimethoxyphenyl</p>  <p>[353-18251]</p> <p>353-18251 1g 7,000 359-18253 5g 23,000</p>	<p>HOMSi 3,4-Dimethoxyphenyl</p>  <p>[356-18241]</p> <p>356-18241 1g 7,000 352-18243 5g 23,000</p>	<p>HOMSi 2,4,6-Trimethylphenyl</p>  <p>[947515-76-6]</p> <p>357-17931 1g 6,500 353-17933 5g 21,000</p>	<p>HOMSi p-Ethoxycarbonylphenyl</p>  <p>[353-18011]</p> <p>353-18011 1g 9,500 359-18013 5g 35,000</p>	<p>HOMSi 4-Biphenyl</p>  <p>[351-17451]</p> <p>351-17451 1g 6,000 357-17453 5g 18,000</p>	<p>HOMSi p-Morpholinylphenyl</p>  <p>[356-18001]</p> <p>356-18001 1g 9,500 352-18003 5g 35,000</p>
<p>HOMSi 1-Naphthyl</p>  <p>[354-17441]</p> <p>354-17441 1g 6,000 350-17443 5g 19,000</p>	<p>HOMSi 4-Methoxynaphthalene</p>  <p>[353-17911]</p> <p>353-17911 1g 7,000 359-17913 5g 23,000</p>	<p>HOMSi p-Phenoxyphenyl</p>  <p>[357-18271]</p> <p>357-18271 1g 7,500 353-18273 5g 25,000</p>	<p>HOMSi p-(4-Morpholinylmethyl)phenyl</p>  <p>[358-18061]</p> <p>358-18061 1g 9,500 354-18063 5g 35,000</p>	<p>HOMSi p-(4-Morpholinylcarbonyl)phenyl</p>  <p>[350-18021]</p> <p>350-18021 1g 9,500 356-18023 5g 35,000</p>	<p>HOMSi p-(4-Methylpiperazine)phenyl</p>  <p>[355-18071]</p> <p>355-18071 1g 9,500 351-18073 5g 35,000</p>
<p>HOMSi p-(Diphenylamino)phenyl</p>  <p>[354-18041]</p> <p>354-18041 1g 7,000 350-18043 5g 24,000</p>	<p>HOMSi Thienyl</p>  <p>[853955-72-3]</p> <p>350-17421 1g 7,000 356-17423 5g 22,000</p>	<p>HOMSi 5,6-Dihydro-4H-pyran-2-yl</p>  <p>[355-18211]</p> <p>355-18211 1g 9,500 351-18213 5g 35,000</p>	<p>HOMSi 3-Pyridine</p>  <p>[354-17821]</p> <p>354-17821 1g 8,000 350-17823 5g 26,000</p>	<p>HOMSi 6-Methoxypyridin-3-yl</p>  <p>[356-18361]</p> <p>356-18361 1g 9,500 352-18363 5g 35,000</p>	<p>HOMSi 1,3-Benzodioxol-5-yl</p>  <p>[359-18351]</p> <p>359-18351 1g 7,000 355-18353 5g 23,000</p>
<p>HOMSi 1-Methylindol-5-yl</p>  <p>[353-18371]</p> <p>353-18371 1g 11,000 359-18373 5g 39,000</p>	<p>HOMSi 2-(Tetrahydropyran-2-yl)pyrazol-3-yl</p>  <p>[352-18221]</p> <p>352-18221 1g 9,500 358-18223 5g 35,000</p>	<p>HOMSi Fluoren-2-yl</p>  <p>[350-18261]</p> <p>350-18261 1g 9,300 356-18263 5g 33,000</p>	<p>HOMSi 9,9-Dimethylfluoren-2-yl</p>  <p>[354-18281]</p> <p>354-18281 1g 8,000 350-18283 5g 25,000</p>	<p>HOMSi p-(Carbazol-9-yl)phenyl</p>  <p>[359-18091]</p> <p>359-18091 1g 10,000 355-18093 5g 36,000</p>	<p>HOMSi 9-Methylcarbazol-3-yl</p>  <p>[352-18101]</p> <p>352-18101 1g 11,000 358-18103 5g 39,000</p>
<p>HOMSi 9-Phenylcarbazol-3-yl</p>  <p>[359-18111]</p> <p>359-18111 1g 11,000 355-18113 5g 39,000</p>	<p>HOMSi 9-Benzylcarbazol-3-yl</p>  <p>[352-18081]</p> <p>352-18081 1g 11,000 358-18083 5g 38,000</p>	<p>HOMSi p-Benzeneboronic Acid Pinacol Ester</p>  <p>[357-18031]</p> <p>357-18031 1g 11,000 353-18033 5g 39,000</p>			

Bacillus subtilis natto（納豆菌）は世界的に一般的安全性（generally accepted as safe）が認められている菌株で、ナットウキナーゼとはその菌株が産生する血栓溶解（線溶）酵素である¹⁾。これが一般の定義である。その分子構造はすでに決まっており275残基が一本鎖でつながったポリペプチド構造である（分子量27,724、pI 8.7）^{2,3)}。ナットウキナーゼはそのまま経口摂取しても強い線溶効果を持つ³⁾。また、ナットウキナーゼはプロテアーゼの中でも特に強いアミロイド分解能を有するとされる⁴⁾。

その力価検定にはフィブリンをよく切るためフィブリン平板法¹⁾が用いられてきた（図1）。CLT法やFU法などいくつかの方法があるが、いずれもフィブリンを用いており種々の間違いを犯しやすいので注意をしなければならぬ⁵⁾。重要なことは線溶酵素の基質フィブリンは水に溶けにくいいため、*K_m*、*K_{cat}*値などを正確には測れないことである。

以下、ナットウキナーゼに特異的な合成アミド基質を用いた力価検定法（国際単位：IU）、並びにその性質を示す。

試薬

- ・ナットウキナーゼ標準品（250IU/g以上）は和光純薬で購入可能
- ・BSB：0.17Mホウ酸－生食緩衝液（pH7.8）
- ・パラニトロアニリン（pNA）
- ・合成アミド基質：Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA(I)、Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA(II)等。合成基質は 5×10^{-3} Mになるようにジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し、凍結保存する。

方法

1. 遊離するpNAの濃度を決定するため、pNAを溶液（DMSO：BSB = 1：9）で任意に希釈し、405nmの吸光度を測定する。得られた結果から検量線を作成し、pNA 1 μmol/mlの吸光度（AN）を算

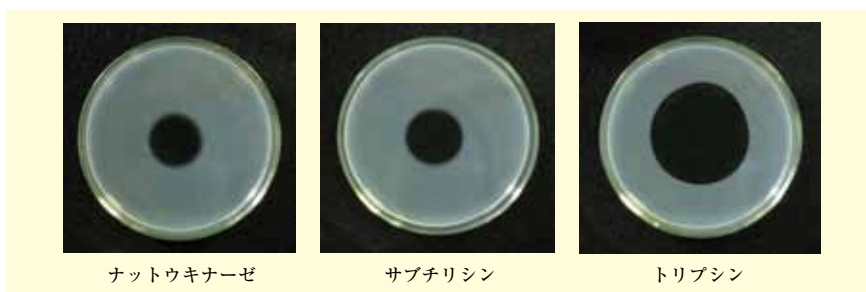


図1. 標準フィブリン平板法による血栓溶解能

試料をBSB（pH7.8）に溶解させフィブリン平板に置き、37℃、18時間後の溶解面積を比較（ナットウキナーゼ、サブチリシンとしてオリエンターゼ、トリプシンを各1mg/ml）。いずれの酵素でもよく溶解することが分った。フィブリンを基質に用いると、特異性に大きな差はみられないことが分る。

2. 酵素液は精製水で適宜希釈する。
3. 基質溶液100 μlとBSB 800 μlを光路長1 cmの石英セル内でよく混合し、37℃、2分間予備加温した後に吸光度計にセットする。
4. 酵素液 100 μlを加えピペットでよく混合してすぐに吸光度測定を開始する。吸光度測定対照として、DMSO 100 μl、BSB 800 μlおよび精製水100 μlを混合したものをを用いる。
5. 405nmの吸光度を250秒間測定し、直線的に吸光度が上昇する時間帯について、1分間あたりの吸光度の変化率（dA）を算出する。

計算

本法は、フィブリンに比べ性状が安定している合成ペプチドを基質として

ナットウキナーゼを作用させたとき、遊離するパラニトロアニリン（pNA）の濃度を405nmの吸光度を測定することで、合成基質に対する分解活性を定量化するものである。本法のとおり測定を行い、1分間に1 μmolのpNAを生成する酵素活性を1国際単位（IU）とする。

力価：合成アミド基質Iを分解したときの活性で規定する。

$$(IU/g) = (dA/AN) \times D$$

ただしdA：合成アミド基質Iのときの1分間当りのA405増加量
AN：pNA1 μmol/mlの吸光度
D：石英セル内のナットウキナーゼの希釈率

成績

図2はナットウキナーゼの分子構造を示す。ナットウキナーゼはプラスミ

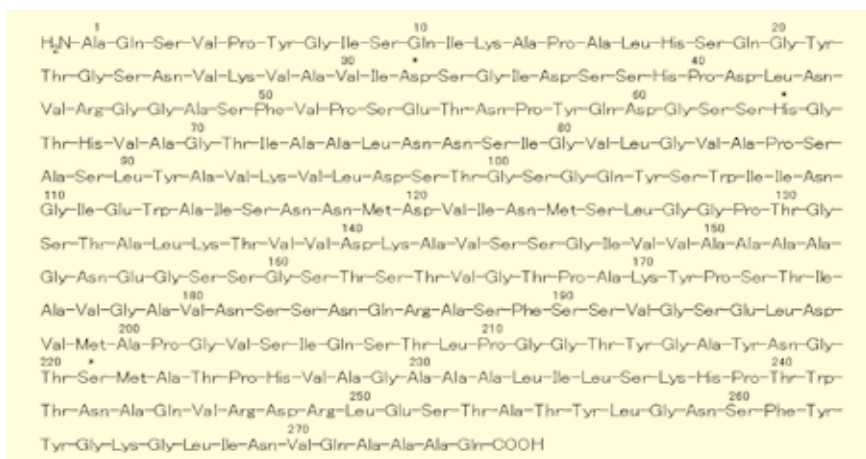


図2. ナットウキナーゼの分子構造

ナットウキナーゼはS-S結合のない1本鎖のセリン酵素で、275残基からなる。計算分子量27,724。*active site

表1. ナットウキナーゼ標準品の合成アミド基質分解能

基質	分解量 $\mu\text{mol}/\text{min}$
Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA (I)	423.12
Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA (II)	215.03
MeO-Suc-Arg-Pro-Tyr-pNA (III)	61.04
H-D-Ile-Pro-Arg-pNA (IV)	1.46
H-D-Val-Leu-Lys-pNA (V)	1.59
pyro-Glu-Pro-Val-pNA	0.13
Suc-Ala-Ala-Ala-pNA	0
H-D-Phe-Pip-Arg-pNA	0
pyro-Glu-Gly-Arg-pNA	0
H-D-Pro-Phe-Arg-pNA	0
H-D-Val-Leu-Arg-pNA	0
Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA	0

基質濃度 $5 \times 10^{-4}\text{M}$ 、BSB pH7.8。

ンと同じくフィブリンを直接分解し、プラスミノゲン活性化能は持たない。最近この酵素の基質特異性が分ってきた。

12種類の合成アミド基質を用い標準ナットウキナーゼによる分解能を調べた結果、最もよく反応したのは合成基質 I (Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA) であり、残りの II~V、あるいはその他に対しては非常に弱いことが分る(表1)。この特異性を生かしナットウキナーゼと市販納豆の力価検定を行った(表2)。ナットウキナーゼ標準品 1gは423.12国際単位 (IU) であった。また、スターター(種菌)で既に納豆菌と認められている宮城野菌、高橋菌、成瀬菌を用いた市販の納豆製品も全て同様であった。ナットウキナーゼ標準品は納豆に比べて約200倍(乾燥重量当り)純化されていることが分る。このナットウキナーゼ標準品を Linewerver-Burk の式に当てはめると、例えば0.50mg/mlの酵素を用いた場合、きれいな直線関係が得られ $K_m=6.38 \times 10^{-4}\text{M}$ 、 $V_{max}=0.034 \mu\text{mol}/\text{min}$ となった。

一方、*Bacillus subtilis* (枯草菌)はナットウキナーゼと相同性の高い酵素(サブチリシン)である Carlsberg や BPN' (70.2%および85.5%)を作る。両者は合成基質 II (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA) に対して強く働き、また他のサ

表2. ナットウキナーゼの力価検定

製品	力価 (IU/g)
市販納豆	
A 製品	1.87
B 製品	1.25
C 製品	0.69
D 製品	0.83
ナットウキナーゼ	
ナットウキナーゼ標準品	423.12

納豆は wet、ナットウキナーゼ標準品は dry 当りの力価を示す。

きるのではないかとされた⁶⁾。

さて、一般的に心筋梗塞や脳梗塞は明け方から午前中にかけて起りやすいとされている。ナットウキナーゼの血栓溶解作用は体の中で6~8時間続くと考えられているので、夜に摂れば寝ている間にもこの働きが期待できる³⁾。ナットウキナーゼの経口化で血漿中の t-PA が増え、ELT 短縮、FDP 増加が起こるのである^{2,3)}。また、ナッ

ブチリシン類、工業用の麹菌のプロテアーゼも合成基質 I に対して非常に活性が低いことが分った(図3、4)。つまり、納豆菌と枯草菌が持つ基質特異性は全く異なる。少なくともナットウキナーゼの有無が両者の判別に応用で

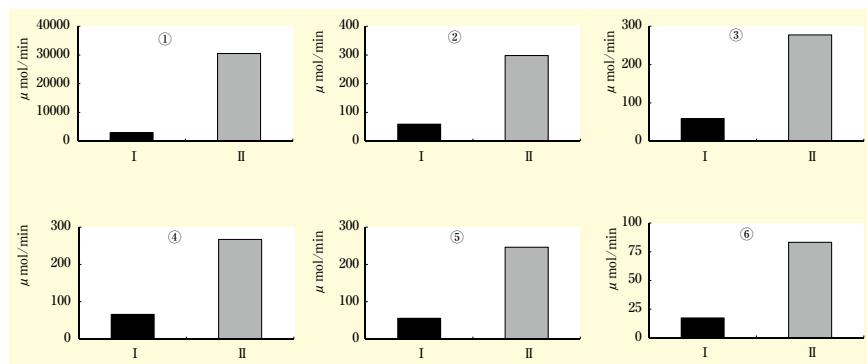


図3. 市販のサブチリシン6種類による合成アミド基質分解能

I : Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA II : Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA

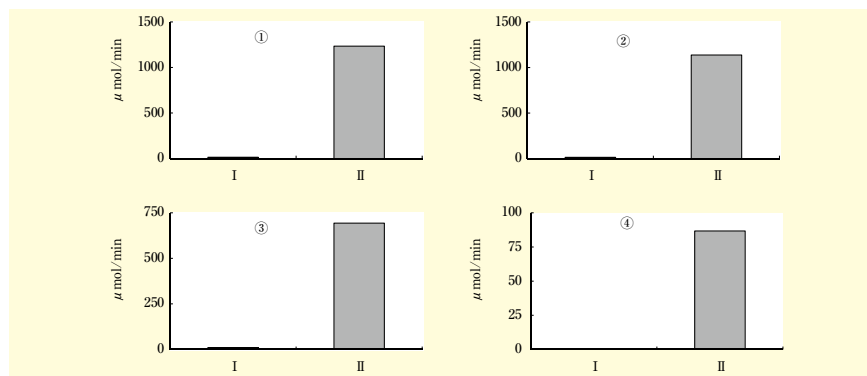


図4. 市販の麹類酵素4種類による合成アミド基質分解能

I : Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA II : Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA

その多くは産業用、即ち洗濯用洗剤、繊維、検査、飼料用などに使われているのであるが、フィブリンに対しても納豆菌と共通の特異性を持つものがある。

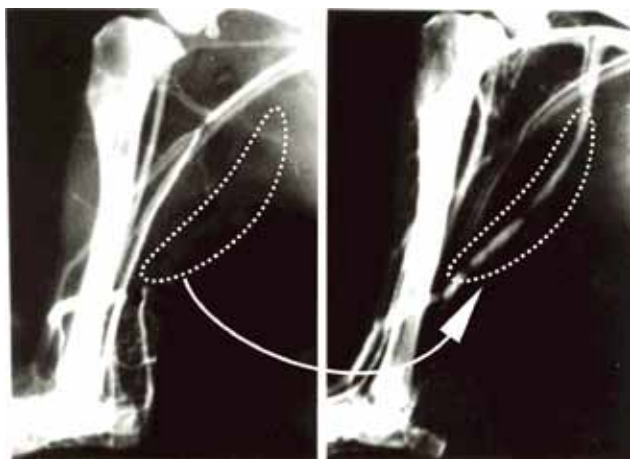


図5. ナットウキナーゼの作用

ビーグル犬のアンギオグラフィーの結果である。ナットウキナーゼを経口投与後にフィブリン塊が消失し再開通しているのが分かる。

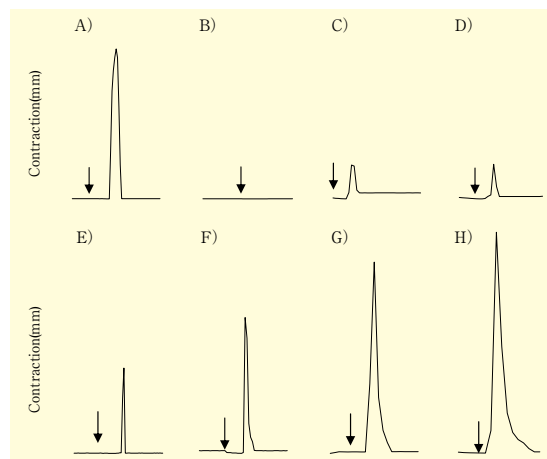


図6. ナットウキナーゼによるキニン産生能

A : Bradykinin (1ng/ml)
 B : ヒト血漿希釈液+water (control)
 C ~ H : ヒト血漿希釈液+ナットウキナーゼ5-250 μg/ml

トウキナーゼは*in vitro*であるが、ウロキナーゼの前駆体に働き活性化する能力を持っている^{7,8)}。ナットウキナーゼはPAI-1を分解する能力⁹⁾、また、血管内皮細胞のt-PAを高めるように働く¹⁰⁾。同じく納豆菌が作り出すジピコリン酸はナットウキナーゼ量をコントロールしていることも分ってきた¹¹⁾。

また、最近ナットウキナーゼはキニン形成酵素の一種でもあることが分ってきた^{12,13)} (図6)。キニノーゲンに働きブラジキニンを遊離するのである。特にそうして生じたBradykininは1ng/ml以下でも生体で強い活性を持つ。納豆に古くから知られていた降圧効果がこれで説明がつくかもしれない。ナットウキナーゼは血圧降下作用、循環改善効果という面で、今後大いに利用される可能性があるものと思われた。

【参考文献】

1) Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H.: "A novel fibrinolytic enzyme

(nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean in food of the Japanese diet", *Experientia*, **43**, 1110-1111 (1987).
 2) Sumi, H. and Yatagai, C.: "Fermented soybean components and disease prevention", *Soy in Health and Disease Prevention*, Taylor & Francis, pp251-278 (2005).
 3) Sumi, H., Hamada, H., Nakanishi, H. and Hiratani, H.: "Enhancement of fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase", *Acta. Haematol.*, **84**, 139-143 (1990).
 4) Hsu, R. L., Lee, K. T., Wang, J. H., Lee, L. Y. L. and Chen, R. P.: "Amyloid-degrading ability of nattokinase from *Bacillus subtilis natto*", *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 503-508 (2009).
 5) 政田正弘: ナットウ抽出物の血栓溶解活性の定量法について, *Food Style 21*, **8**, 92-95 (2004).
 6) 須見洋行, 大杉忠則, 矢田貝智恵子, 内藤佐和, 丸山真杉, 齋藤丈介: 納豆菌と枯草菌の違いはナットウキナーゼの有無で判別可能, 薬理と臨床, **19**, 255-260 (2009).
 7) Sumi, H.: "Structure and fibrinolytic properties of nattokinase", *Basic and Clinical Aspects of Japanese Traditional Food Natto 1*, Japan Technology Transfer Association, pp.49-56 (1994).
 8) Sumi, H., Banba, T. and Kishimoto, N.: "Strong pro-urokinase activators proved in

Japanese soybean cheese natto", *Nihon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **43**, 1124-1127 (1996).
 9) Urano, T., Ihara, H., Umemura, K., Suzuki, Y., Oike, M., Akita, S., Fukumoto, Y., Suzuki, I. and Takeda, A.: "The prodibrinolytic enzyme subtilisin NAT purified from *Bacillus subtilis* cleaves and inactivates plasminogen activator inhibitor Type 1", *J. Biol. Chem.*, **276**, 24690-24696 (2001).
 10) Yatagai, C., Maruyama, M., Kawahara, T. and Sumi, H.: "Nattokinase-promoted tissue plasminogen activator release from human cells", *Pathophysiol. Haemost. Thromb.*, **36**, 227-232 (2009).
 11) Sumi, H., Ikeda, S. and Ohsugi, T.: "Increasing the production of nattokinase and vitamin K₂ in natto with dipicolinic acid", *The Open Food Sci. J.*, **3**, 10-14 (2009).
 12) Ikeda, S., Naito, S., Ohsugi, T. and Sumi, H.: "Substrate specificity and kinin-producing activity of nattokinase, 2nd International symposium and kallikrein-related peptidases", p.63, Santorini Island, Greece (2007).
 13) 須見洋行, 矢田貝智恵子, 内藤佐和, 丸山真杉: "キニン産生系の酵素ナットウキナーゼ-カリクレインにかかわる納豆の降圧・循環改善作用-", *New Food Industry*, **50**, 55-60 (2008).

高活性で安価なナットウキナーゼ



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
147-08801	Nattokinase	生化学用	5g	6,000
145-08802			25g	18,000

はじめに

血管新生とは既存の血管から新しい血管を構築するプロセスであり、胎児の成長や創傷治癒、腫瘍の増殖や転移など、さまざまな場面で重要な役割を果たしている。特に、ガンの成長や転移に必須の現象であることから、昨今は血管新生の阻害剤を抗がん剤として用いる研究開発が盛んである^{1,2)}。血管新生の促進剤とは言えば、こちらも血流不足による諸症状の治療に必要とされているものの、その応用は極めて少ない。これは主に、その作用を有する物質が生体由来の増殖因子以外にほとんど知られていないためと考えられる。血流不足は糖尿病患者における慢性閉塞性動脈硬化症やバジャー病の他、動脈硬化による各種の血管閉塞等によって引き起こされる。創傷治癒も含めて、血管新生治療の望まれる領域は広い。しかし現在行われている血管新生治療は増殖因子の患部への注射や遺伝子療法などに限定されており^{3,5)}、これに代わる安定で安価な低分子の開発が期待される場所である。本稿では、筆者らが発見した新規低分子化合物 2-Cl-C.OXT-A の血管新生作用について紹介したい。

2-Cl-C.OXT-A の活性発見の経緯

従来筆者らは希少糖⁶⁾を中心とする単糖の生理活性の探究を行ってきた。色々な生理活性が報告される中、筆者らが検討しているのは血管内皮細胞の管腔形成に及ぼす効果である。血管内皮細胞による管腔形成は、生体における血管新生のモデルである。この実験系を用いて40種類を超える単糖の効果スクリーニングしたところ、一部の希少糖やリボース、2-デオキシリボースに管腔形成抑制作用があることが判明した⁷⁾。リボース、2-デオキシ

リボースは言うまでもなく、生体内における核酸の構成成分である。そこで検討対象を単糖誘導体である核酸に広げて生体由来のヌクレオシドやヌクレオチド、核酸医薬品、合成核酸とその誘導体などの活性もスクリーニングした。検討した核酸類は30余種に及ぶ。期待通り、核酸類の多くは管腔形成を抑制したが、その中で唯一、強力な促進作用を示した物質があった。それが今回紹介する2-Cl-C.OXT-Aである⁸⁾。

2-Cl-C.OXT-A について

2-Cl-C.OXT-A の構造式をその類似化合物と共に図1に示した。これは Basacchi 等の方法⁹⁾ に準じて徳島文理大学香川薬学部の丸山徳見教授に合成していただいた。2-Cl-C.OXT-A は2位が塩化されたアデニンに、リボースや2-デオキシリボースではなく2つのヒドロキシメチル基を持つシクロブタン環が結合した構造をしている。同じシクロブタン環に核酸塩基グアニンが結合しているC.OXT-GはLobucavirの名前で抗ウイルス薬として開発された物質であり、現在よく用いられる抗ウイルス薬Ganciclovirと類似の構造をしている¹⁰⁾。2-Cl-C.OXT-Aの活性について構造活性相関を検討するため、図1に示した化合物の活性を比較することにした。

管腔形成促進と構造活性相関

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) をヒト線維芽細胞と共培養するとHUVECは管腔を形成する。この系における添加物の効果を検討した。培地に2-Cl-C.OXT-Aを1 μM、10 μM、100 μMの濃度で添加した場合に形成された管腔の写真を図2に示した。positive controlであるVEGF (vascular endothelial growth factor A) はもちろんであるが、2-Cl-C.OXT-Aも明らかな、しかもVEGFを上回るほど強力な管腔形成の促進作用を濃度依存的に示した。無添加コントロールにおいて形成された管腔の面積を1とした場合の相対値は1 μMで1.36 ± 0.40、10 μMで2.44 ± 0.89、100 μMで3.78 ± 1.09の値を得ている。VEGFの値が1.84 ± 0.48 (各n=9, mean ± SD)であったから、2-Cl-C.OXT-Aは10 μMでVEGFと同等以上、100 μMで2倍程度の作用があると言える。

この促進作用は2-Cl-C.OXT-Aのアデニン部の塩素を除いたり(図1のC.OXT-A)、アデニンをグアニンに変える(図1のC.OXT-G)と消滅した。2-Cl-アデニンという構造がこの生理活性に必須であることがわかる。しかし、2-Cl-アデニン構造だけを有して

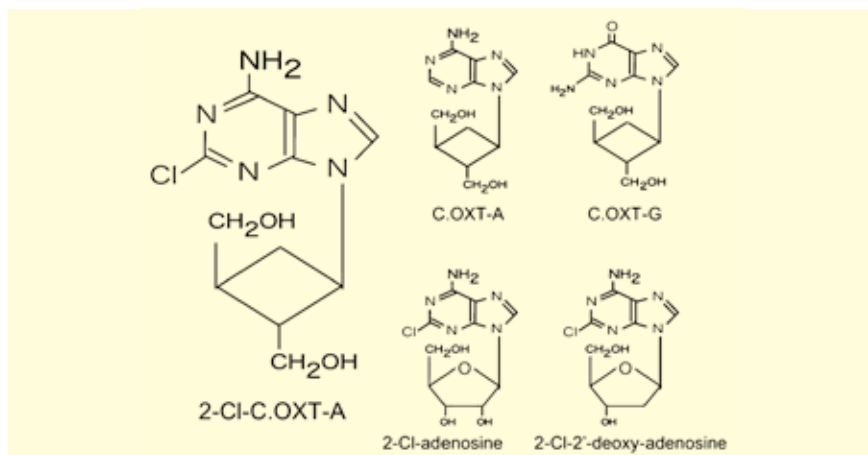


図1. 2-Cl-C.OXT-A とそのアナログの構造

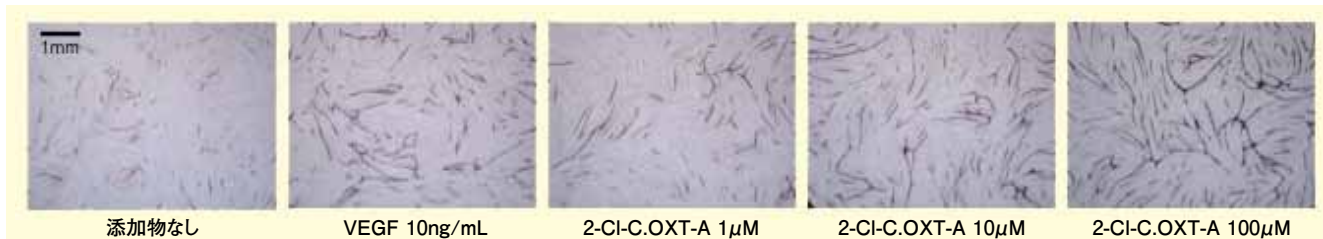


図2. 2-Cl-C.OXT-AによるHUVECの管腔形成の促進

いればよいというものでもなかった。図1に示した2-Cl-アデノシンや2-Cl-2-デオキシアデノシンは2-Cl-アデニン構造を有しながら全く管腔形成促進活性を示さなかったのである。活性発現のためにはハロゲン化したアデニンと2つのヒドロキシメチル基を持つシクロブタン環の両方が必要であるということになる。

2-Cl-C.OXT-Aの管腔形成促進作用は100 μMをピークとしてより高濃度になるとその作用は減弱し、1000 μMを越えると抑制作用に転じた。

増殖と遊走

生体における血管新生の際には、血管内皮細胞が管腔を形成することに前後して、血管内皮細胞の遊走や増殖が起こる。例えば癌細胞から血管新生誘発因子であるVEGFが分泌され、これが近くの血管内皮細胞に血管新生の指令を伝える。これを受けて、血管内皮細胞が指令の発信源に向かって遊走と増殖を起こしながら新たな血管を構築していくことになる。HUVECの増殖と遊走について2-Cl-C.OXT-Aの効果を検討したところ、管腔形成を促進したのと同じ濃度(10-100 μM)で、増殖と遊走を促進することが明らかとなった。

シグナル伝達系の検討

生体における血管新生のプロモーターはいくつか知られているが、その中で最も強力なものがVEGFである。

血管を必要とする場所から分泌されたVEGFが近隣の血管内皮細胞に存在するレセプターに結合することから血管新生は誘導される¹¹⁾。この間のシグナル伝達についての研究報告は多数あるが、まだ不明な点も多い。筆者らは代表的な経路のひとつであるMAP kinase cascadeについてリン酸化抗体を用いて2-Cl-C.OXT-Aの影響を検討した。図3に示したように2-Cl-C.OXT-Aは添加後10-15分でHUVECのMAP kinase kinase MEKのリン酸化を促進した他、ひとつ下流であるMAP kinase ERK1/2のリン酸化も亢進した。MEK inhibitor PD98059は2-Cl-C.OXT-AによるERK1/2のリン酸化を阻害しただけでなく、HUVECの管腔形成も阻害した。従って、2-Cl-C.OXT-Aによる管腔形成促進作用にはMEKの関与するシグナル伝達系の賦活化が寄与しているものと考えられた。一方、最上流である、VEGFレセプターの阻害剤SU5416を添加しても2-Cl-C.OXT-AによるERK1/2活性化

に影響はなかったから、2-Cl-C.OXT-Aの作用点はこれより下流でMEKよりも上流という事になる。

In vivoでの検証

ここまで、2-Cl-C.OXT-Aの血管新生作用を*in vitro*で検証を行ってきたが、*in vivo*での作用をニワトリ漿尿膜とウサギ角膜を用いて検討した。

図4にニワトリ漿尿膜を用いた実験(CAM assay)の結果を示した。孵化11日目の漿尿膜に添加物を加えた20 μLのMatrigelを置き、更に42-48時間培養を続けた後の漿尿膜の様子である。添加物は写真の下に示したが、VEGFや2-Cl-C.OXT-Aを添加したgelの際には無添加gelには見られない新生血管がたくさん見られ、また周辺の血管が引き寄せられているのが観察できる。

ウサギの角膜を使う方法(corneal micropocket assay)では片眼の角膜内に作ったポケットにφ3mm×厚さ0.5mmのEVA(Ethylene vinyl ace-

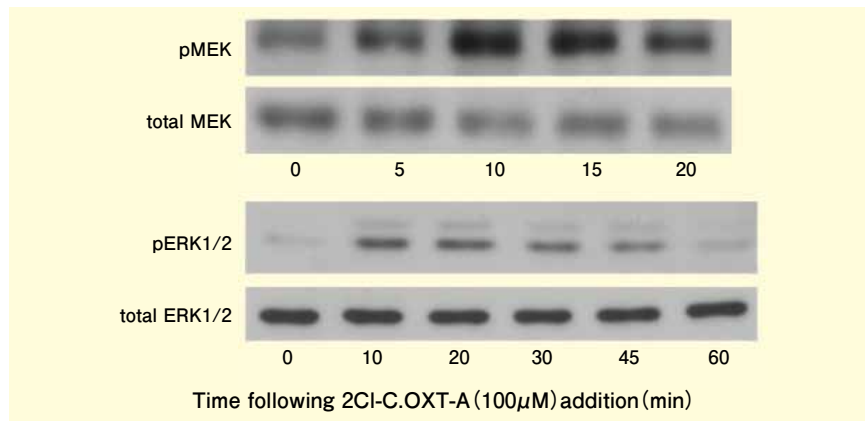


図3. HUVECにおける2-Cl-C.OXT-AによるMEK, ERK1/2の活性化

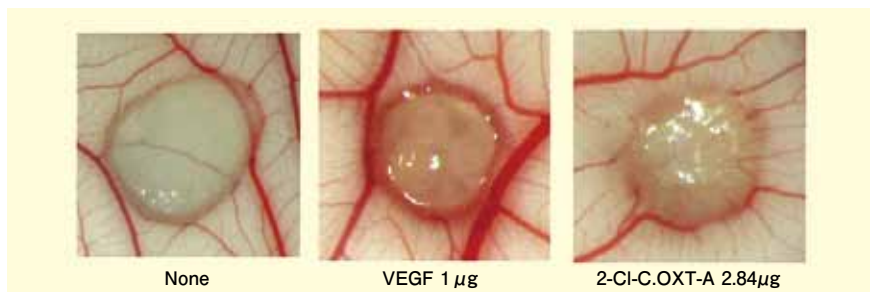


図4. CAM (chorioallantoic membrane) assay における 2-Cl-C.OXT-A の促進作用 Matrigel 20 μ L 中の添加物を写真下に示した。

tate copolymer) フィルムに添加剤を含有させたものを埋め込み、7日後に観察をおこなった。コントロールは無添加フィルムを埋め込んだ対眼とした。Positive controlにはbFGF (basic fibroblast growth factor) を用いた。フィルムに向かって伸びる新生血管の長さの合計で評価したが、コントロールが $1.62 \pm 0.85\text{mm}$ 、bFGF が $6.96 \pm 1.18\text{mm}$ として 2-Cl-C.OXT-A が $5.72 \pm 0.46\text{mm}$ (各 $n=5$, mean \pm SE) であり、positive control 同様、有意に血管新生が増加することが確かめられた。

2-Cl-C.OXT-A の応用の可能性

以上のように 2-Cl-C.OXT-A は *in vitro* において HUVEC の管腔形成と増殖、遊走を促進した。この作用には MAP kinase cascade の MEK のリン酸化 (活性化) が関与していることが示唆された。ニワトリ漿尿膜やウサギ角膜を用いた *in vivo* 実験でも血管新生作用を確

認することができた。2-Cl-C.OXT-A は分子量 284 の合成低分子化合物である。化学的に非常に安定であり、粉末のまま常温での保存が可能である。筆者は 2 mM の生理食塩水溶液をストックに作り、念のため冷蔵庫に保管しながら数ヶ月にわたって使用しているが変質を感じたことはない。284 という分子量は薬剂的には経皮・経粘膜吸収が可能な分子サイズである。現在、化学的、生物学的に安定とは言えない VEGF や FGF (Fibroblast growth factor) 等の血管新生促進物質を注射や遺伝子導入の手法で治療に用いていることを鑑みれば、塗り薬、貼り薬、ローション剤も可能な 2-Cl-C.OXT-A の優位性は明らかである。また、HUVEC において活性化が確認された MAP kinase cascade は多くの細胞に存在するシグナル伝達系である。血管内皮細胞における血管新生だけでなく、別の細胞の別の機能に影響する可能性は十分考えられる。このたび、2-Cl-C.OXT-A

は和光純薬から研究用試薬として販売される運びとなった。今後の研究の広がり期待したい。

謝 辞

2-Cl-C.OXT-A の研究に際し、本体とそのアナログの合成は徳島文理大学香川薬学部の丸山徳見教授に、シグナル伝達系の検討は香川大学医学部の五十嵐淳介准教授に、CAM assay は (財) 東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所の芦野洋美博士に、ウサギ角膜を用いての検討には帝國製薬株式会社の川田光裕博士等に多大な協力をいただいた。この場を借りて、心から御礼申し上げます。

【参考文献】

- 1) Ferrara, N., Hillan, K. J. and Novotny, W. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 328-335 (2005).
- 2) D'amato, R. J. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **91**, 4082-4085 (1994).
- 3) Bobek, V. et al. : *Vascul. Pharmacol.*, **44**, 395-405 (2006).
- 4) Collinson, D. J. and Donnelly, R. : *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, **28**, 9-23 (2004).
- 5) O'Toole, G. et al. : *Br. J. Plast. Surg.*, **54**, 1-7 (2001).
- 6) 塚本郁子 : 薬剤学, **67**, 314-322 (2007).
- 7) 塚本郁子ら : 第 27 回日本糖質学会年会, P2-101.
- 8) Tsukamoto, I., Maruyama, T. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **399**, 699-704 (2010).
- 9) Basacchi, G. S. et al. : *J. Med. Chem.*, **34**, 1415-1421 (1991).
- 10) Tenney, D. J. et al. : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41**, 2680-2685 (1997).
- 11) Ferrara, N. : *Endocr. Rev.*, **25**, 581-611 (2004).

新規血管新生促進剤

2-Cl-C.OXT-A

特 長

- 血管新生促進作用が見出された低分子化合物
HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) における管腔形成促進。CAM アッセイ (ニワトリ漿尿膜)、ウサギ角膜における血管新生促進
- HUVEC において VEGFR-2 の活性化は起こさないが、MEK (MAPKK)、ERK1/2 (MAPK) の活性化 (リン酸化) を促進

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
032-21541	2-Cl-C.OXT-A	細胞生物学用	1mg	15,000
038-21543			5mg	60,000



近年の二酸化炭素排出削減のために世界的に様々な技術開発が行われています。中でもセルロース系バイオマス（リグノセルロース）を原料としたバイオ燃料の生産技術、特にリグノセルロースを酵素分解して液体燃料の原料（グルコースやキシロースなどの糖）を生産する技術は、①酵素の価格が高い、②産生される糖溶液の濃度が低い、等の理由でなかなか実用化には至っていません。また、リグノセルロースの糖化用に用いられる酵素は主として糸状菌を培養して生産されますが、原料となるバイオマスの種類、前処理法によって最適な酵素の生産方法は異なります。これは各酵素に含まれる種々の糖化酵素の存在割合の微妙な変化が、最終的な糖化効率に影響するためであろうと考えられます。セルロース系バイオマスバイオマス糖化用酵素によって酵素分解の際に、特定の酵素を補填することにより糖化効率を上昇させるための補填用糖化酵素についてご紹介します。

①β-グルコシダーゼ

β-グルコシダーゼは、水溶性のセロオリゴ糖を末端から加水分解し、単糖であるグルコースを生産する反応を触媒します。一般にβ-グルコシダーゼは、反応生成物であるグルコースによっていわゆる生成物阻害を受けます。糖化反応溶液中の最終的なグルコース濃度を上げるためには、なるべく生成物による阻害を受けにくい酵素を使用する必要があります。

耐熱性β-グルコシダーゼと一般的な糸状菌由来のβ-グルコシダーゼのグルコースによる反応阻害曲線（図1）を見ると、阻害のカーブが緩やかであり、グルコースによる反応阻害がかかりにくい酵素であることが分かります。

②キシロシダーゼ

キシロシダーゼはキシロースオリゴマーを末端から加水分解するエキソ型の反応を触媒します。本キシロシダー

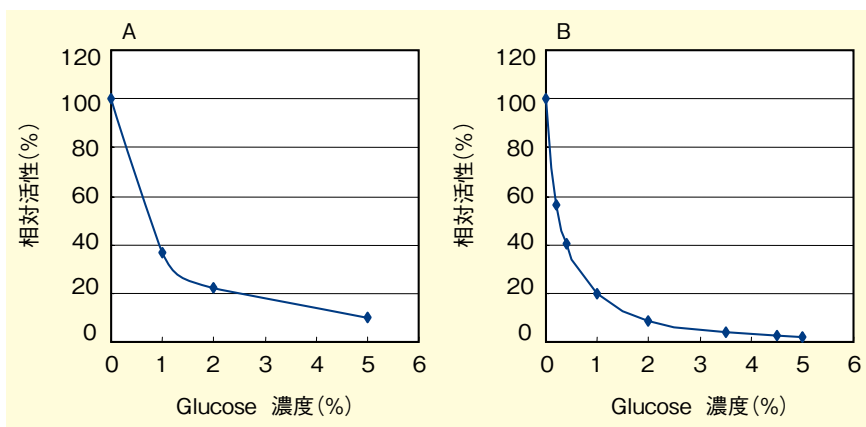


図1. グルコースによる耐熱性β-グルコシダーゼの阻害
β-グルコシダーゼを種々濃度のグルコース存在下でp-ニトロフェニルβ-D-グルコピラノシドを基質として酵素活性を測定した。A, 耐熱性β-グルコシダーゼ、B, 糸状菌由来β-グルコシダーゼ。

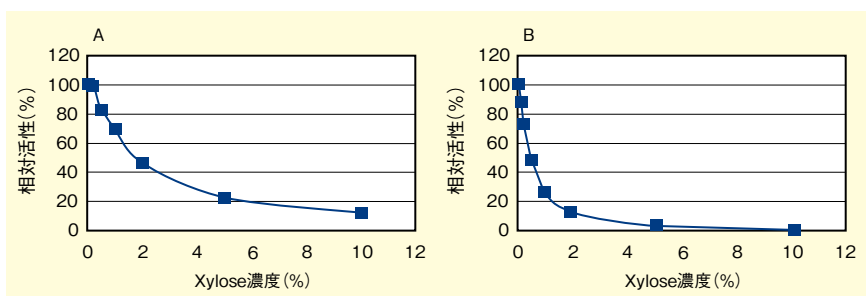


図2. キシロースによる耐熱性キシロシダーゼの阻害
キシロシダーゼを種々濃度のキシロース存在下でp-ニトロフェニルβ-D-キシロピラノシドを基質として酵素活性を測定した。A, 耐熱性キシロシダーゼ、B, 糸状菌由来キシロシダーゼ。

ぜは耐熱性が非常に高く、一般のバイオマス糖化用酵素（セルラーゼ）を使用した糖化反応を行うような温度域では長期間活性が低下しません。

本酵素に関しても耐熱性β-グルコシダーゼと同じく、糸状菌由来のキシロシダーゼと比較してキシロースによる反応阻害を受けにくく、リグノセルロース中のキシランの効率的な分解の補助剤として有用です。

実際に耐熱性キシロシダーゼと糸状菌由来のキシロシダーゼのキシロースによる阻害曲線（図2）を見ると、阻害のカーブが緩やかであることが分かります。

キシロシダーゼの糸状菌セルラーゼへの添加の影響

実際のバイオマス分解の際に用いる糸状菌セルラーゼに、キシロシダーゼを添加することによって、糖化力の増

強などの効果を検討しました。様々な糖質分解酵素の混合物である糸状菌セルラーゼに、耐熱性キシロシダーゼを加えるだけで、キシロース生成量の有意な上昇が認められました（図3）。

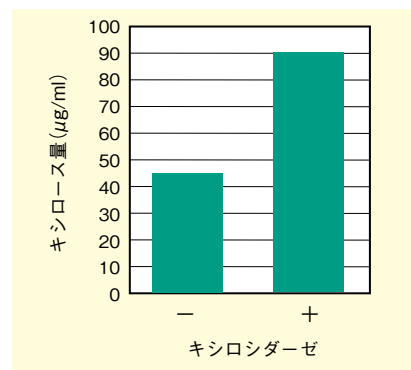


図3. バイオマス糖化に対するキシロシダーゼ添加の影響

バイオマス懸濁液に糸状菌セルラーゼのみ（-）、糸状菌セルラーゼに加えてキシロシダーゼを添加（+）し、50℃ 20時間反応後に遊離したキシロース量を測定した。

このように、キシロシダーゼだけでなく糸状菌由来のセルラーゼに加え、エンド型グルカナーゼ（セルラー

ゼ）、セロビオハイドロラーゼ、 β -グルコシダーゼ、キシラナーゼなどを適宜補填することにより、これまでより

も高い糖収率、糖濃度を得ることの助けになるものと考えます。

有償サンプルのご案内



耐熱性酵素

■ β -1,4-グルコシダーゼ，組換え体，溶液

- 由来：E. coli expressed β -1, 4-glucosidase
- 組成：20mmol/l Sodium acetate (pH 6.0), 10mmol/l NaCl, 1mmol/l DTT
- 活性：ラベルに記載 (100 units/ml 以上)
- 単位の定義：1mmol/l p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside から 60℃、1 分間に 1 μ mol の p-nitrophenol を遊離する酵素量を 1unit とする。
- 反応温度：30 ~ 60℃
- 反応 pH：pH 4.5 ~ 5.5
- 保存条件：- 20℃

■ β -1,4-キシロシダーゼ，組換え体，溶液

- 由来：E. coli expressed β -1, 4-xylosidase
- 組成：20mmol/l Sodium acetate (pH 6.0)
- 活性：ラベルに記載 (100 units/ml 以上)
- 単位の定義：1mmol/l p-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside から 95℃、1 分間に 1 μ mol の p-nitrophenol を遊離する酵素量を 1unit とする。
- 反応温度：40 ~ 95℃
- 反応 pH：pH 5.5 ~ 6.5
- 保存条件：- 20℃

品 名	容 量	希望納入価格(円)
β -1,4-Glucosidase, recombinant, Solution	1ml	30,000
β -1,4-Xylosidase, recombinant, Solution	1ml	30,000

※詳しくは、当社営業員または当社販売代理店までお問合せ下さい。

関連商品

耐熱性酵素

■ セルラーゼ

- 70℃以上で高い活性を示し、90 ~ 100℃でも活性を維持
- 結晶性セルロースなどの不溶性セルロースを分解

■ キチナーゼ

- 85℃でも活性を維持
- β キチンのみならず、 α キチンも分解

■ イノシトール 1-りん酸合成酵素

- 85℃でも活性を維持
- 高効率な合成が可能

■ DNA リガーゼ

- 100℃で1時間、95℃では3時間以上にわたり活性を維持

- 高いライゲーション効率

■ 一本鎖DNAリガーゼ

- 高い熱安定性
- 高いライゲーション効率
- 一本鎖RNAのライゲーションも可能
- 至適温度：60 ~ 65℃

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
030-19871	Cellulase, thermostable, recombinant, Solution	生化学用	1ml	30,000
034-19891	Chitinase, thermostable, recombinant, Solution	生化学用	1ml	30,000
090-05381	Inositol 1-Phosphate Synthase, thermostable, recombinant, Solution	生化学用	1ml	35,000
294-64201	DNA Ligase, thermostable, recombinant, Solution	遺伝子研究用	25 μ l	32,000
298-65103	Single Strand DNA Ligase, thermostable, recombinant, Solution	遺伝子研究用	200units	43,000
292-65101			500units	87,000

試料前処理用固相抽出カラム Presep® RPP-WAX の開発

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 竹中 智子

分析試料の精製・濃縮などの前処理として用いられる固相抽出法 (SPE) は、従来の液-液抽出法に比べて簡便かつ、多検体の同時処理が可能などの利点を持ち、医薬・食品・環境分析など幅広い分野で採用されています。Presep® (プレセップ®) シリーズは、ディスプレイタイプ (シリンジ型ボディ) に SPE 用担体を充てんしたカラムであり、目的成分に対する高い捕集率と回収率が得られるように設計されています。

この度、この Presep® シリーズに新製品として Presep® RPP-WAX を開発しましたので、その特長・製品仕様、カラム性能についてご紹介します。

(1) Presep® RPP-WAX の特長・製品仕様

本品は親水性基と疎水性基を併せ持つ粒子径 60 μm のジビニルベンゼン-



図 1. Presep® RPP-WAX

メタクリレート系ベースポリマーに弱陰イオン交換基 (第三級アンモニウム基) を導入した担体 60mg を 3ml シリンジに充てんした SPE カラム (図 1) です。逆相モードとイオン交換モードの機能を持ち、おもに強酸性化合物を選択的に回収し、しかも、ベースポリマーが親水性であることから水

系試料での高い捕集効果が期待できます。

(2) カラム溶出条件の検討

カラム溶出条件は、2-ナフタレンスルホン酸、サリチル酸及びケトプロフェンを生理食塩水で調製した標準試料の添加回収率から評価しました。その結果、カラムのコンディショニング

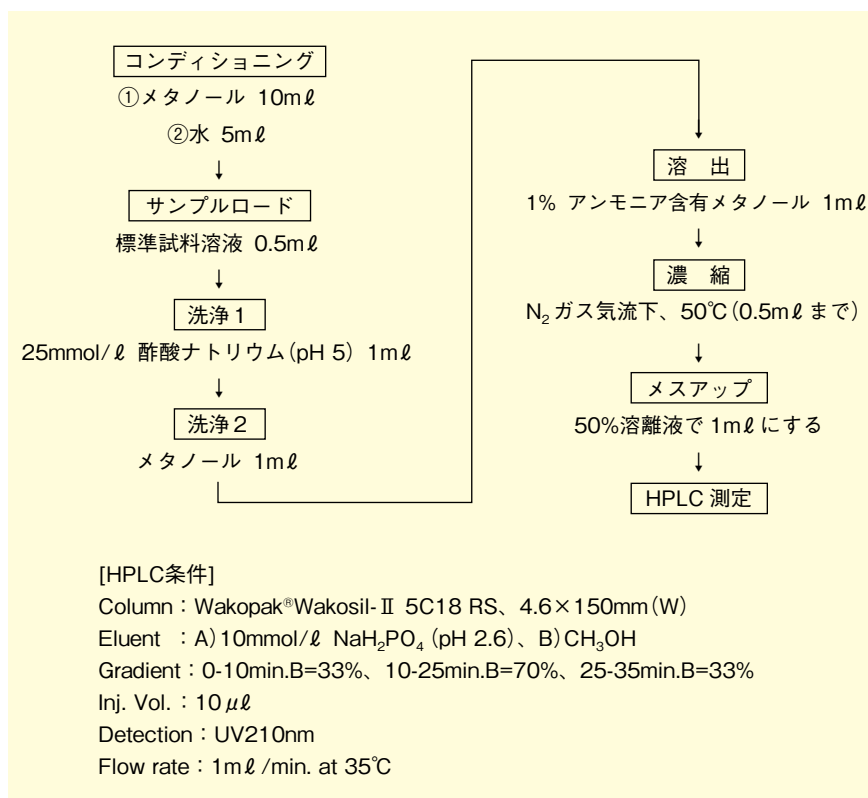


図 2. 前処理メソッドと HPLC 条件

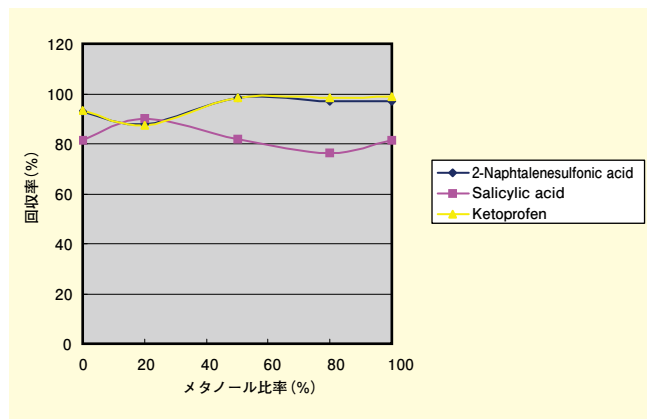


図 3. 有機溶媒の影響

アンモニア濃度を 2% に固定し、アセトニトリル 100% からメタノール 100% まで混合比率を変化させた時の回収率の変化を測定した。

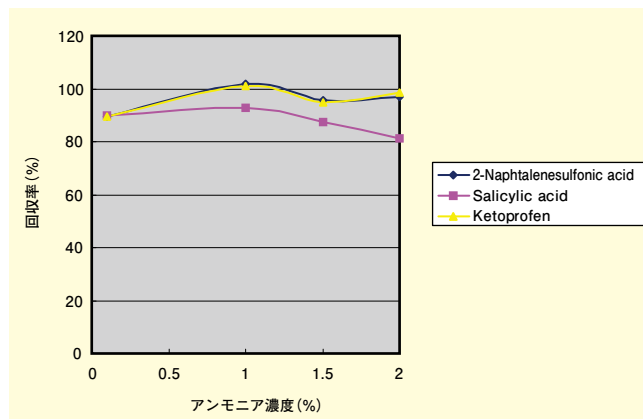


図 4. アンモニア濃度の影響

メタノール 100% の時のアンモニア濃度の影響を測定した。

条件や溶出の際の有機溶媒の種類（アセトニトリル/メタノール）と混合比率やアンモニア濃度により、2-ナフタレンスルホン酸、サリチル酸及びケトプロフェンの回収率が変動することが判りました。その結果を図3、4に示しましたが、溶出時のアンモニア濃度は1%、溶媒種はメタノールが至適であると判断しました。この時の至適メソッドを図2に示しました。

(3)カラム性能の比較

図2に示した前処理メソッドに従ってPresep® RPP-WAXとA社製品(60mg/3ml：親水性逆相-弱陰イオン交換基混合ポリマー)、B社製品(100mg/1ml：弱イオン交換基結合シリカ)、C社製品(60mg/3ml：弱イオン交換基結合ポリマー)の性能をベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、

表1. 添加回収率

成分名	Presep® RPP-WAX	A社製品	B社製品	C社製品
ベンゼンスルホン酸	93	83	—	20
トルエンスルホン酸	93	90	—	24
2-ナフタレンスルホン酸	100	94	34	22
サリチル酸	93	95	24	33
ケトプロフェン	100	88	21	36

(—：未測定)

2-ナフタレンスルホン酸、サリチル酸及びケトプロフェンの回収率の比較で検討しました。

その結果を表1に示しましたが、Presep® RPP-WAXは溶出液としてメタノールのみでの使用で高い回収率が得られるなどの利点があり、既に他社製品でメソッドを組まれている場合で

も、溶出条件を僅かに変更することで良好な回収率が得られると考えます。

Presep® RPP-WAXは近日発売を予定しております。先に発売しましたPresep® RPP-SAX（強陰イオン交換基）と使い分けることで固相抽出法の応用が広がれば幸いです。

Products



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-33941	Presep® RPP-WAX (60mg/3ml)	試料前処理用	10本×10	照会

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-33301	Presep® RPP-SAX (60mg/3ml)	試料前処理用	10本×10	45,000

分析用カラム

コードNo.	品名	タイプ	容量	希望納入価格(円)
238-51471	Wakopak® Wakosil-II5C18RS 4.6*150mm	D	1本	45,000
234-51473		W	1本	45,000

HPLC用溶媒

コードNo.	品名	タイプ	容量	希望納入価格(円)
046-16971	Distilled Water	HPLC用	1ℓ	1,500
042-16973			3ℓ	2,600
138-06473	Methanol	HPLC用	1ℓ	1,400
132-06471			3ℓ	3,400
019-08631	Acetonitrile	HPLC用	1ℓ	6,700
015-08633			3ℓ	16,000
197-12135	0.25 mol/ℓ Sodium Dihydrogenphosphate Solution	HPLC用	500ml	3,700

食品などの分析に

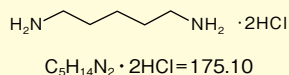


健康食品などの食品分析用標準品を新たに追加しました。

不揮発性腐敗アミン類

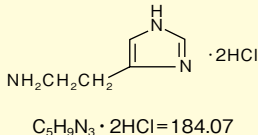
■ カダベリン二塩酸塩標準品

化学名: 1,5-Pentanediamine Dihydrochloride
CAS No.: 1476-39-7
含量 (Ti): 98.0% 以上
外 観: 白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末
溶解性: 水に可溶。熱エタノールにほとんど溶けない。



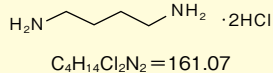
■ ヒスタミン二塩酸塩標準品

化学名: 2-(4-Imidazolyl)ethylamine Dihydrochloride
CAS No.: 56-92-8
含量 (Ti): 98.0% 以上
外 観: 白色～わずかにうすい褐色、結晶性粉末
溶解性: 水、エタノールに可溶。



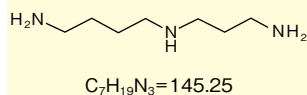
■ ブトレシン二塩酸塩標準品

化学名: 1,4-Butanediammonium Dichloride
CAS No.: 333-93-7
含量 (Ti): 99.0% 以上
外 観: 白色～ほとんど白色、結晶性粉末～粉末又は塊
溶解性: 水に可溶。メタノールに不溶。



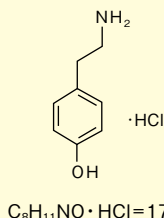
■ スペルミジン標準品

化学名: *N*-(3-Aminopropyl)-1,4-butanediamine
CAS No.: 124-20-9
含量 (Ti): 97.0% 以上
外 観: 白色～うすい褐色、塊、又は融解時、無色～わずかにうすい褐色、澄明の液体
溶解性: 水、エタノールに可溶。



■ チラミン塩酸塩標準品

化学名: 4-(2-Aminoethyl)phenol Hydrochloride
CAS No.: 60-19-5
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末
溶解性: 水、エタノールに可溶。アセトンにほとんど溶けない。

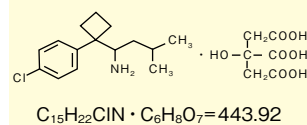


コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
033-21451	Cadaverine Dihydrochloride Standard	食品分析用	100mg	照 会
081-09151	Histamine Dihydrochloride Standard	食品分析用	100mg	12,000
164-24411	Putrescine Dihydrochloride Standard	食品分析用	100mg	10,000
193-15731	Spermidine Standard	食品分析用	100mg	照 会
202-18131	Tyramine Hydrochloride Standard	食品分析用	100mg	10,000

シブトラミン・シブトラミン代謝物

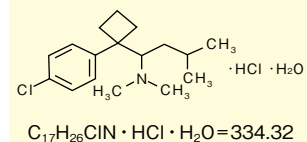
■ 脱 *N*-ジメチルシブトラミンくえん酸塩標準品

化学名: 1-[1-(4-Chlorophenyl)cyclobutyl]-3-methylbutylamine Citrate
CAS No.: 1067620-90-9
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色～ほとんど白色、結晶性粉末～粉末
溶解性: ほとんどの有機溶媒に可溶。
備 考: シブトラミンの主要代謝物



■ シブトラミン塩酸塩一水和物標準品

化学名: *N*-1-[1-(4-Chlorophenyl)cyclobutyl]-3-methylbutyl-*N,N*-dimethylamine Hydrochloride Monohydrate
CAS No.: 125494-59-9
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外 観: 白色、結晶性粉末～粉末
溶解性: 水に可溶。



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
041-31321	<i>N</i> -Didemethylsibutramine Citrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	22,000
199-15711	Sibutramine Hydrochloride Monohydrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	22,000

SIトレーサブルな標準物質



TRM (Traceable Reference Material)

当社では、産業技術総合研究所 計量標準総合センター (NMIJ) との共同研究により、SIトレーサブルな測定法と ISO ガイド 35 に基づく不確かさの評価法を導入し、計量トレーサビリティを確保した新たな標準物質 [TRM (Traceable Reference Material)] を残留農薬試験用の農薬を中心に数多く品揃え*しております。

TRM シリーズでは、NMIJ が SI トレーサブルな方法で測定した特性値 [純度 (質量分率)] に、小分け時の均質性及び、商品の保存安定性による不確かさを加えた信頼性の高い純度を保証した標準物質です。

* 取扱い品目は順次追加しておりますのでお問合せ下さい。

計量トレーサビリティの根拠となる NMIJ による分析結果報告書は下記ホームページにて閲覧できます。
<http://www02.wako-chem.co.jp/siyaku/trm/index.asp>

電子工業用薬品

Wako

高純度有機溶剤及び酸類 (SC 規格)

本品は、半導体分野などに使用できる、パーティクルや金属不純物を抑えた電子工業用高純度薬品 (SC 規格品) です。

特長

- パーティクル、金属不純物の低減
- 使い易い 1 way タイプ

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
018-23121	Acetone	SC	1ℓ	2,000
050-08001	Ethanol	SC	1ℓ	4,200
133-16391	Methanol	SC	1ℓ	1,500
143-08881	Nitric Acid (1.42)	SC	1kg	2,400
194-15761	Sulfuric Acid	SC	1kg	2,000

リンクタイプ

電子工業用薬品 (SC 規格) は、リンク容器でのセット販売も行っています。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
711-48001	Acetone	SC	1ℓ×8	照会
759-48001	Ethanol	SC	1ℓ×8	照会
836-48001	Methanol	SC	1ℓ×8	照会
848-48001	Nitric Acid (1.42)	SC	1kg×12	照会
898-48001	Sulfuric Acid	SC	1kg×12	照会

※ 本容器は、リンク容器で繰り返し使用します。

※ リンクタイプ商品に対するお問合せ先

TEL 大阪 (06)6203-1948 東京 (03)3244-0304

E-mail spec-chem@wako-chem.co.jp

和光純薬時報 Vol. 78 No. 3 訂正案内

和光純薬時報 Vol. 78 No. 3 の記事中に誤りがございました。下記の通り訂正をご案内させて頂くとともに深くお詫び申し上げます。

〈訂正内容〉

掲載箇所: p.15 BINAP-TMPTA ポリマー

訂正箇所: 関連商品 価格表 1 行目、2 行目

訂正内容:

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
025-16461	【誤】(R)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl	有機合成用	100mg	8,000
021-16463	【正】(R)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl		1g	45,000
022-16471	【誤】(S)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl	有機合成用	100mg	8,000
028-16473	【正】(S)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-5,5'-diiodo-1,1'-binaphthyl		1g	45,000

なお、ホームページ掲載 pdf ファイルは訂正しております。

イノシトールりん脂質シグナル研究に Wako

抗ラットジアシルグリセロールキナーゼ γ , ウサギ

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は、イノシトールりん脂質シグナルにおいてジアシルグリセロール (DG) とホスファチジン酸 (PA) の細胞内濃度を制御する酵素です。DG は、受容体刺激時に産生するホスホリパーゼ C によるシグナルのセカンドメッセンジャーとして PKC を活性化します。現在までに、哺乳類の DGK サブタイプは 10 種類が報告されており、 γ サブタイプ (分子量 88,000) はプルキンエ細胞などの神経細胞に多く発現し、PKC γ と直接相互作用することや、EGF 刺激などで上昇する低分子量 G タンパク質 Rac 1 (細胞骨格、細胞形態制御、がん浸潤に関与) の活性を抑制することが報告されています。

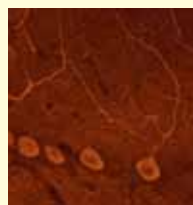
この度、ラット DGK γ に対する抗血清を発売しました。

製品概要

- 形状: 抗血清 (防腐剤、安定剤は含みません)
- 抗原: ラット DGK γ の N 末端付近の配列に相当する GST 融合タンパク質
- 精製: なし
- 特異性: ラット、マウス DGK γ (他はテストしていません)
- 使用濃度: ウェスタンブロッティング 1:1,000 ~ 1:8,000
免疫沈降 2~20 μ ℓ / Test
免疫組織化学 1:10,000 ~ 1:15,000
免疫蛍光染色 1:5,000

使用例

ラットプルキンエ細胞の蛍光染色



固定: 4% パラホルムアルデヒド、0.2% ピクリン酸を含む 0.1mol/ℓ リン酸緩衝液 (pH 7.4)
ブロッキング: 0.3% Triton X-100 を含む 0.01mol/ℓ PBS で 20 分間、さらに 10% 正常ヤギ血清を加えて 20 分間
一次抗体: 本品 (1:5,000)、4℃、16 時間
二次抗体: Alexa 586-labeled goat anti-rabbit IgG (1:2,000)、1 時間

(データご提供: 神戸大学バイオシグナル研究センター 齋藤尚亮先生、白井康仁先生)

【参考文献】

- 1) Adachi, N. et al.: *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **139**, 288 (2005).
- 2) Yamaguchi, Y. et al.: *J. Biol. Chem.*, **281**, 31627 (2006).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
018-23001	Anti Rat Diacylglycerol Kinase γ , Rabbit	免疫化学用	50 μ ℓ	20,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-22791	Anti Human Diacylglycerol	ブロッティング用	50 μ ℓ	20,000
012-22801	Kinase δ , Rabbit	免疫沈降用	50 μ ℓ	20,000

ES細胞・iPS細胞の培養に



StemSure™ シリーズ

StemSure™ シリーズは、マウス ES 細胞 D3 株を用いて、コロニー形成試験とアルカリホスファターゼ (ALP) 染色を行い、細胞増殖と未分化能を品質保証した製品群です。今回、2-メルカプトエタノール溶液、モノチオグリセロール溶液、ゼラチン溶液の3製品をラインアップしました。

製品ラインアップ

- StemSure™ 10mmol/ℓ 2-メルカプトエタノール溶液
- StemSure™ 50mmol/ℓ モノチオグリセロール溶液
- StemSure™ 0.1w/v% ゼラチン溶液

試験項目

- コロニー形成試験 (マウス ES 細胞)
- ALP 染色 (マウス ES 細胞)
- 無菌試験
- マイコプラズマ試験
- エンドトキシン試験 など

2ME (毒物) の代替品

StemSure™ モノチオグリセロール溶液

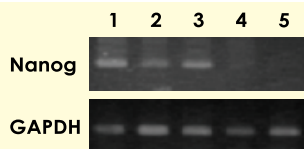
モノチオグリセロール (MTG) は、マウス ES 細胞 D3 株の培養において培地に添加し、2-メルカプトエタノール (2ME) の代替品として使用できます。2ME は、ES 細胞培養に必須の因子です。しかし、2008 年の法改正により毒物に指定され、濃度による除外規定がないため、2ME を含む培地が毒物として扱われます。MTG は、毒物に指定されていないため、MTG を含む培地や廃液は一般品として扱うことができます。

特長

- 2-メルカプトエタノールと同等に使用できるうえに毒物ではない

データ

未分化マーカーの発現確認 (RT-PCR)



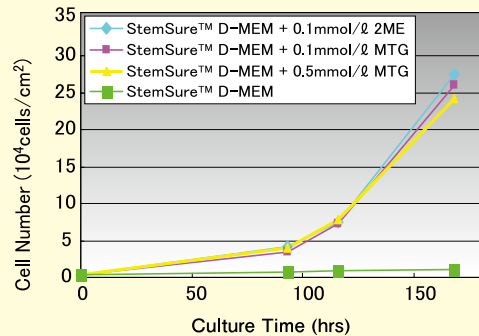
〈培地組成〉

StemSure™ D-MEM + 15% KSR + 4mmol/ℓ L-Glutamine + 2× Non-essential Amino Acids + 1× Penicillin-Streptomycin に下記成分を加える

- 1 : 0.1mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol + 1,000U LIF
- 2 : 0.1mmol/ℓ Monothioglycerol + 1,000U LIF
- 3 : 0.5mmol/ℓ Monothioglycerol + 1,000U LIF
- 4 : 0.1mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol + 50ng/ml Wnt-3a
- 5 : 0.1mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol (胚葉体形成)

〈播種細胞数〉 3,400 cells/cm²
 〈培養期間〉 5日間

細胞増殖能



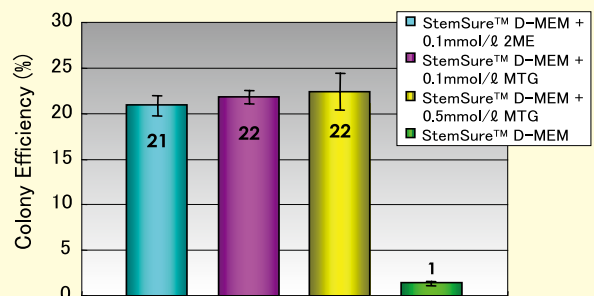
〈培地組成〉

StemSure™ D-MEM + 15% KSR + 4mmol/ℓ L-Glutamine + 2× Non-essential Amino Acids + 1× Penicillin-Streptomycin + 1,000U LIF に下記成分を加える

- ◆ : 0.1mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol
- : 0.1mmol/ℓ Monothioglycerol
- : 0.5mmol/ℓ Monothioglycerol
- : 添加物無し

〈播種細胞数〉 3,400 cells/cm²

コロニー形成能試験



〈培地組成〉

StemSure™ D-MEM + 15% KSR + 4mmol/ℓ L-Glutamine + 2× Non-essential Amino Acids + 1× Penicillin-Streptomycin + 1,000U LIF に下記成分を加える

- : 0.1mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol
- : 0.1mmol/ℓ Monothioglycerol
- : 0.5mmol/ℓ Monothioglycerol
- : 添加物無し

〈播種細胞数〉 1,000 cells/well (6穴プレートを使用)

〈培養期間〉 10日間

コード No.	品名	規格	容量	標準納入価格
NEW 198-15781	StemSure™ 10mmol/ℓ 2-Mercaptoethanol Solution (×100)	細胞培養用	100ml	7,000
NEW 195-15791	StemSure™ 50mmol/ℓ Monothioglycerol Solution (×100)	細胞培養用	100ml	8,000
NEW 190-15805	StemSure™ 0.1w/v% Gelatin Solution	細胞培養用	500ml	7,000

細胞培養用製品



液体培地

当社では、D-MEM、RPMI-1640をはじめとする汎用液体培地を品揃えています。ろ過滅菌処理されていますので、培養温度（37℃付近）に温めてそのままご利用下さい。

品質試験

無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験、細胞増殖能試験 など

コード No.	品名	L-グルタミン	フェノールレッド	ビリンゲ	HEPES	規格	容量	希望納入価格(円)
044-29765	D-MEM (High Glucose)	●	●	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
043-30085		●	●	●	—	細胞培養用	500ml	1,250
048-30275		●	●	—	●	細胞培養用	500ml	1,800
045-30285		—	●	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
040-30095		—	—	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
041-29775	D-MEM (Low Glucose)	●	●	●	—	細胞培養用	500ml	1,250
051-07615	E-MEM	●	●	—	—	細胞培養用	500ml	1,200
078-05525	G-MEM	●	●	—	—	細胞培養用	500ml	2,000
135-15175	MEM α	●	●	●	—	細胞培養用	500ml	1,200
189-02025	RPMI-1640	●	●	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
187-02021		—	—	—	—	細胞培養用	1ℓ	2,400
189-02145		●	●	—	●	細胞培養用	500ml	1,550
186-02155		●	—	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
183-02165		—	●	—	—	細胞培養用	500ml	1,250
087-08335	Ham's F-12	●	●	●	—	細胞培養用	500ml	1,200
080-08565	Ham's F-12K (Kaighn's Modification)	●	●	●	—	細胞培養用	500ml	3,800
048-29785	D-MEM/Ham's F-12	●	●	●	—	細胞培養用	500ml	1,250
042-30555		●	●	●	●	細胞培養用	500ml	1,600
045-30665		●	—	●	—	細胞培養用	500ml	6,000
042-30795		—	●	●	●	細胞培養用	500ml	1,600

胚発生・幹細胞などの研究に



GSK-3 阻害剤

GSK-3は、糖尿病、細胞運命の決定、がん、アルツハイマー病などへの関与が示唆されています。また、GSK-3は、Wnt/ β -catenin 経路のアゴニストとして作用します。このWnt シグナルは、種々の幹細胞の自己増殖に重要であることが判明しています。そのため、GSK-3阻害剤はES細胞・iPS細胞など種々の幹細胞研究に使用されます。

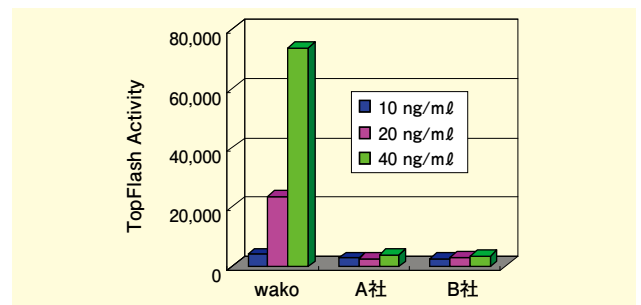
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
029-16241	6-Bromoindirubin-3'-oxime[BIO]	細胞生物学用	1mg	20,000
039-20831	CHIR99021	細胞生物学用	1mg	30,000
NEW 140-08891	NSC693868	細胞生物学用	5mg	30,000
NEW 190-15741	SB216763	細胞生物学用	5mg	18,000
NEW 197-15751	SB415286	細胞生物学用	5mg	20,000
206-17671	TWS119	細胞生物学用	1mg	7,000
202-17673			5mg	23,000
NEW 241-00851	XAV939	細胞生物学用	5mg	24,000

Wnt-3a, マウス, 組換え体, 溶液

Wnt-3aは、ヒトに19種類存在するWntファミリー(Wingless-type MMTV integration site family)の1つです。Wntファミリーは分泌型の糖タンパク質で、細胞運命の調節や胚発生などの種々の発生、発がんなどに関わっており、内胚葉・中胚葉分化への初期誘導がWnt-3aにより誘導されると考えられています。

データ

TopFlash法による活性測定



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 232-02421	Wnt-3a, Mouse, recombinant, Solution	細胞生物学用	1 μ g	30,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
231-02251	Wnt-1, Human, recombinant	細胞生物学用	10 μ g	39,000

■ アニマルフリー無血清培地の基礎成分に最適! ㊦ Wako

トランスフェリン, ヒト, 植物発現組換え体

アルブミン, ヒト, 植物発現組換え体

本品は、ヒト Transferrin 遺伝子、ヒト Albumin 遺伝子を植物で発現させ、高純度に精製した組換えタンパク質です。無血清培地に添加することにより、動物成分フリー環境下での各種細胞株やハイブリドーマの培養が可能になります。

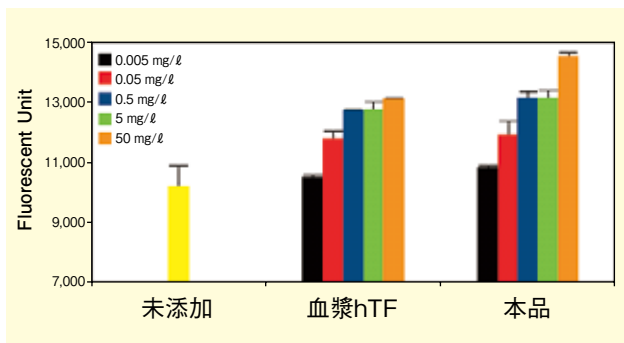
■ ヒトトランスフェリン

特 長

- エンドトキシン測定済み
0.40 EU/mg (初回生産ロット)
- 鉄: 0.06% (初回生産ロット)

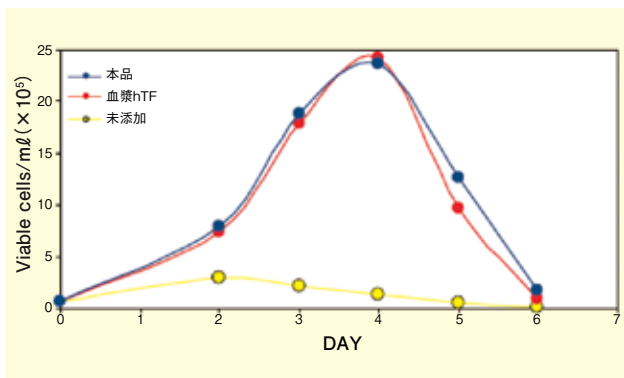
使用例

■ HL-60 (ヒト白血球系細胞株) の増殖効果



トランスフェリンを各濃度で添加した培地での増殖効果を確認したところ、血漿由来トランスフェリンと同等の細胞増殖効果を示した。

■ ハイブリドーマ培養用培地での効果



トランスフェリンを 10mg/ℓ で添加した培地での増殖効果を確認したところ、血漿由来トランスフェリンと同等の細胞増殖効果を示した。

■ ヒトアルブミン

特 長

- エンドトキシン測定済み
0.36 EU/mg (初回生産ロット)

使用例

■ ハイブリドーマの増殖活性比較

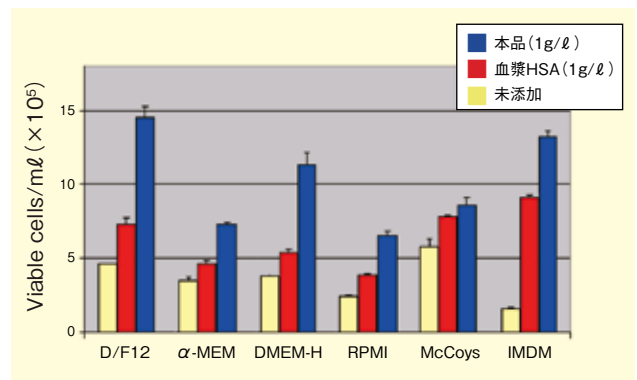


図1. 無血清培地における、血漿HSAと本品のハイブリドーマの増殖活性比較。培養開始から72時間後の生細胞を計数したところ、いずれの無血清培地においても、本品が高効率に細胞増殖を亢進した。

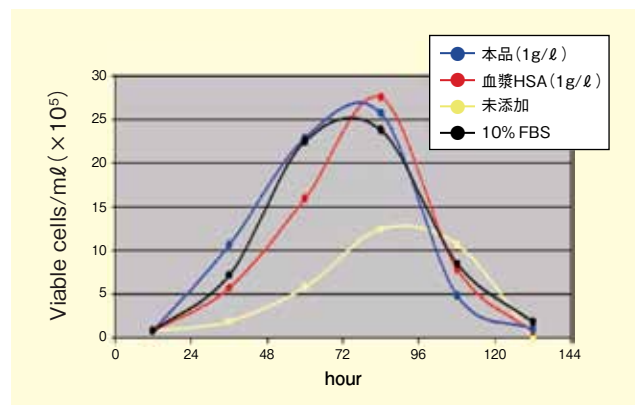


図2. 無血清培地 DMEM/F12 における 10% FBS、血漿HSA、本品とのハイブリドーマの増殖活性比較。培養開始24時間ごとに生細胞を計数したところ、本品が10% FBS とほぼ同様の増殖効率を示した。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
201-18081	Transferrin, Human,	細胞培養用	100mg	12,000
207-18083	recombinant expressed in plants		500mg	45,000
205-18084			1g	80,000
018-21541	Albumin, Human,	細胞培養用	1g	11,000
014-21543	recombinant expressed in plants		5g	45,000
016-21542			25g	210,000

細胞培養の添加物



細胞増殖因子

細胞の増殖に関わるタンパク質です。ウシ由来やヒト由来、植物組換え体、ニュージーランド産の原料由来の製品を取揃えています。

アルブミン

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
011-21271	Albumin, from Bovine Serum, pH 5.2	和光一級	1g	1,700
017-21273			10g	6,000
019-21272			25g	12,000
015-21274			100g	30,000
013-21275			500g	105,000
011-21276			1kg	155,000
013-23291	Albumin, from Bovine Serum, Cohn Fraction V, pH 7.0	生化学用	10g	6,000
019-23293			50g	12,000
017-23294			100g	22,000
015-23295			500g	68,000
017-15146	Albumin, from Bovine Serum, Fatty Acid Free	生化学用	5g	6,000
017-15141			10g	10,000
013-15143			50g	35,500
011-15144			100g	63,000
017-22231	30w/v% Albumin Solution, from Bovine Serum, Fatty Acid Free	細胞培養用	50ml	28,500
013-10501	Albumin, from Human Serum	生化学用	1g	4,000
019-10503			5g	15,000
017-10504			10g	24,000

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-21541	Albumin, Human, recombinant expressed in plants	細胞培養用	1g	11,000
014-21543			5g	45,000
016-21542			25g	210,000

トランスフェリン

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
205-18121	Transferrin (Apo), from Human Blood	細胞培養用	100mg	14,000
201-18123			1g	92,000
201-18081	Transferrin, Human, recombinant expressed in plants	細胞培養用	100mg	12,000
207-18083			500mg	45,000
205-18084			1g	80,000
208-18091	Transferrin (Holo), from Bovine Blood, New Zealand Origin	細胞培養用	100mg	16,000

その他タンパク質

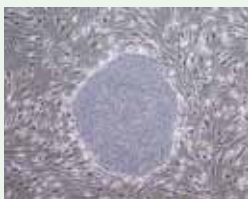
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
090-03446	Insulin, Human, recombinant	細胞培養用	50mg	7,000
096-03443			100mg	12,000
090-03441			1g	70,000
094-03444			10g	照会
125-04123	Lactoferrin, from Bovine Milk	生化学用	100mg	2,000
123-04124			1g	4,500
129-04121			5g	12,000
127-04122			25g	40,000
188-02051	Lactoferrin, Human, recombinant expressed in plant	細胞培養用	50mg	9,200
184-02053			100mg	14,000
182-02054			500mg	60,000

第26回

Wako ワークショップ

幹細胞・iPS 細胞研究の最前線

開催日：平成22年11月26日（金）10：00～17：00
 開催場所：THE GRAND HALL
 東京都港区港南2-16-4
 品川グランドセントラルタワー 3F
 TEL：03-5463-9971 / 開催当日：03-5463-9973
 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
 参加費：無料
 定員：300名（申し込み先着順にて、定員になり次第締め切らせて頂きます。）
 参加申込方法：当社ホームページよりお申し込み下さい。
 URL：http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/
 お問い合わせ先：和光純薬工業株式会社 試薬営業本部 学術部
 TEL：03-3270-8243



ヒトiPS細胞（写真提供：慶應義塾大学 医学部 生理学教室 教授 岡野栄之先生）

講演プログラム

10:00～ 開会挨拶 和光純薬
 10:05～ はじめに 慶應大・医 岡野 栄之
 10:10～ 「ES/iPS細胞から臓器を作ることを目指す
 -プラナリアにその方法を学ぶ-」
 京大院・理 阿形 清和
 10:55～ 「生殖細胞の形成機構とその再構成」
 京大院・医 斎藤 通紀
 11:40～ (昼 食)
 12:40～ 「ヒト人工染色体と幹細胞の出会い
 -遺伝子・再生医療を目指して-」
 鳥取大・染色体工学研究センター 押村 光雄
 13:25～ 「マウス大脳神経幹細胞の運命制御機構」
 東大・分生研 後藤 由季子
 14:10～ 「疾患特異的iPS細胞を用いた神経変性疾患の研究」
 京大・iPS細胞研究所 井上 治久
 14:55～ (コーヒーブレイク)
 15:15～ 「iPS細胞を用いた創薬研究の新展開」
 武田薬品工業 中西 淳
 16:00～ 「iPS細胞技術を用いた再生医学・疾患・創薬研究」
 慶應大・医 岡野 栄之
 16:45～ おわりに 慶應大・医 岡野 栄之
 16:50～ 閉会挨拶 和光純薬

疾患研究に



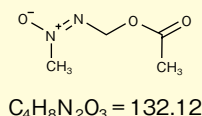
病態モデル作製用試薬

ラットやマウスをはじめとする動物に投与することにより、その動物にヒトの病態に近い状態を引き起こさせることができます。今回、新たに統合失調症モデルとパーキンソン病モデル作製に使用される試薬をラインアップしました。

■メチルアゾキシメタノール=アセタート【MAM】

統合失調症モデル作製に使用します。

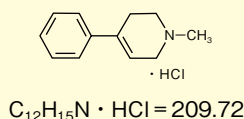
CAS No. : 592-62-1



■1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン塩酸塩【MPTP】

パーキンソン病モデル作製に使用します。

CAS No. : 23007-85-4



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
136-16303	Methylazoxymethanol Acetate【MAM】	細胞生物学用	20mg	80,000
136-16381	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Hydrochloride【MPTP】	細胞生物学用	10mg	18,000

関連商品

コードNo.	品名	病態モデル	規格	容量	希望納入価格(円)
191-15151	Streptozotocin	糖尿病	細胞生物学用	100mg	6,000
197-15153				500mg	10,000
195-15154				1g	18,000
191-15156				5g	70,000
194-14921	Sodium Dextran Sulfate 36,000 ~ 50,000	大腸炎	-	10g	8,000
190-14923				100g	47,000
160-05191	Protamine Sulfate, from Salmon	膀胱炎	-	1g	3,000
166-05193				5g	5,000
168-05192				25g	14,500
162-05195				500g	照会
047-18863	Dexamethasone	腎細胞がん	生化学用	100mg	2,500
041-18861				1g	6,000
011-20171	Azoxymethane	大腸がん	細胞生物学用	100mg	50,000

血管新生・リンパ管新生などのシグナル伝達研究に Wako

VEGF レセプターキナーゼ阻害剤

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) は、血管内皮細胞に特異的に発現する分子群であり、血管新生の分子シグナルの研究が進められています。また、近年では、VEGF レセプター (VEGFR)3 がリンパ管新生に関与していることが報告されました。

■Ki 8751

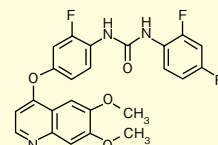
強力で選択的な VEGFR2 阻害剤です。(IC₅₀ = 0.9nmol/ℓ)

含量 (HPLC) : 96.0% 以上

ジメチルスルホキシド溶状 :

試験適合

CAS No. : 228559-41-9



$C_{24}H_{18}F_3N_3O_4 = 469.41$

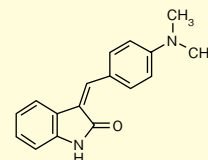
■SU4312

VEGFR2 阻害剤です。(Ki (非活性型) = 0.04 μmol/ℓ、Ki (活性型) = 4 μmol/ℓ)

含量 (HPLC) : 97.0% 以上

ジメチルスルホキシド溶状 :

試験適合



$C_{17}H_{16}N_2O = 264.32$

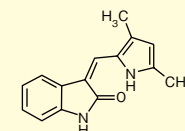
■SU5416

VEGFR2、FGFR1、PDGFRβ の阻害剤です。(IC₅₀ = 1.3、4.2、37.9 μmol/ℓ)

含量 (HPLC) : 97.0% 以上

エタノール溶状 : 試験適合

CAS No. : 204005-46-9



$C_{15}H_{14}N_2O = 238.28$

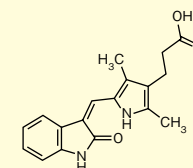
■SU6668

強力で選択的な VEGFR2、FGFR1、PDGFRβ の阻害剤です。(IC₅₀ = 3.9、3.8、0.10 μmol/ℓ)

含量 (HPLC) : 98.0% 以上

エタノール溶状 : 試験適合

CAS No. : 252916-29-3



$C_{18}H_{18}N_2O_3 = 310.35$

[次頁に続く]

■ トラニラスト

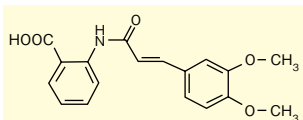
VEGF誘導性血管新生の阻害剤です。(細胞増殖、細胞遊走、管形成のIC₅₀=22、18、193 μmol/l)

含量 (HPLC) : 98.0%以上

エタノール溶状 : 試験適合

CAS No. : 53902-12-8

備考 : 抗アレルギー薬



C₁₈H₁₇NO₅ = 327.33

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 112-00891	Ki8751	細胞生物学用	5mg	22,000
NEW 190-15861	SU4312	細胞生物学用	5mg	16,000
NEW 196-15841	SU5416	細胞生物学用	5mg	18,500
NEW 193-15851	SU6668	細胞生物学用	5mg	22,000
NEW 203-18301	Tranilast	細胞生物学用	10mg	12,000

新製品のご案内

がん研究用試薬

当社では、がん・血管新生・アポトーシス関連の基礎研究用試薬をラインナップしております。

製品リストをご用意しております。詳細は当社HPをご参照下さい。

http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/gan_kenkyu/index.htm

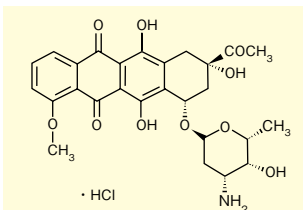
■ ダウノルビシン塩酸塩

アンスラサイクリン系抗生物質です。細胞の核酸合成過程に作用し、直接DNAと結合してDNA合成反応を阻害します。

含量 (HPLC) : 95.0%以上

水溶状 : 試験適合

CAS No. : 23541-50-6



C₂₇H₂₉NO₁₀ · HCl = 563.98

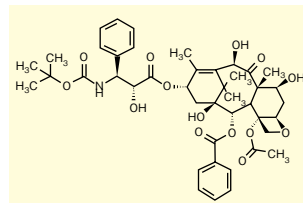
■ ドセタキセル

タキソイド系抗がん剤です。細胞内でチューブリンの重合を促進し、脱重合を阻害することにより、細胞の有糸分裂を停止します。

含量 (HPLC) : 98.0%以上

エタノール溶状 : 試験適合

CAS No. : 114977-28-5



C₄₃H₅₃NO₁₄ = 807.88

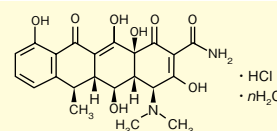
■ ドキシサイクリン塩酸塩n水和物

テトラサイクリン系抗生物質です。他のテトラサイクリン系抗生物質と比較して、グラム陽性菌に対し強力に作用します。アミノアシルtRNAに作用し、細菌のタンパク質合成を阻害します。

含量 (HPLC) : 98.3%

※ 初回生産ロット実績値

水溶状 : 試験適合



C₂₂H₂₄N₂O₈ · HCl · nH₂O
(C₂₂H₂₄N₂O₈ · HCl = 480.90)

■ ラパマイシン

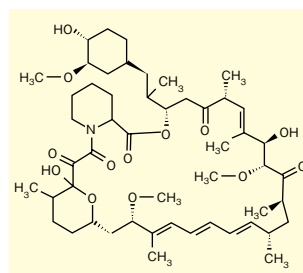
マクロライド系免疫抑制剤です。FK 506の構造類似体で、FK 506結合タンパク質 (FKBP) と結合しますが、カルシニューリンの活性は阻害しません。ラパマイシン-FKBP複合体は、mTORのキナーゼ活性を阻害することにより、IL-2からのシグナルを阻害します。細胞周期G1/S期の移行を阻害します。

含量(E体) (HPLC) : 97.0%

※ 初回生産ロット実績値

メタノール溶状 : 試験適合

CAS No. : 53123-88-9



C₅₁H₇₉NO₁₃ = 914.17

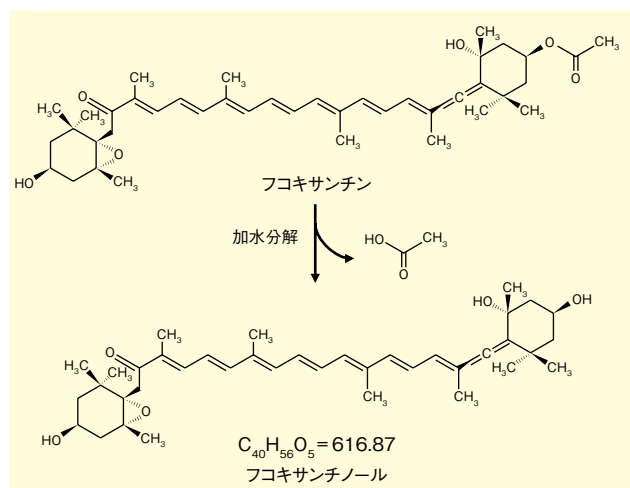
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 049-31241	Daunorubicin Hydrochloride	薬理研究用	10mg	15,000
045-31243			50mg	54,000
NEW 047-31281	Docetaxel	薬理研究用	5mg	22,000
NEW 049-31121	Doxycycline Hydrochloride n-Hydrate	細胞生物学用	1g	6,000
045-31123			5g	16,000
NEW 180-02533	Rapamycin (mixture of isomers)	細胞生物学用	10mg	54,000
188-02534			50mg	180,000

フコキサンチンの代謝産物

Wako

フコキサンチノール

フコキサンチノールは、フコキサンチンのアセチル基が遊離することによって生成されます。カロテノイドの一つであるフコキサンチンは、経口摂取された後、消化管内でリパーゼなどによってフコキサンチノールに変換後、消化管から吸収されると考えられています。フコキサンチンのさまざまな生理活性は、その代謝産物であるフコキサンチノールによるものであると考えられており、脂肪細胞に対する脂肪蓄積抑制効果はフコキサンチンよりも高いことが報告されています。



製品概要

- 含量 (HPLC) : 94.0%以上 (異性体混合)
- 溶解性 : メタノール、エタノール、アセトニトリル、アセトン、クロロホルムに可溶
- CAS No. : 7176-02-5

【参考文献】

- 1) Sugawara, T. et al. : *J. Nutr.*, **132**, 946 (2002).
- 2) Asai, A. et al. : *Drug Metab. Dispos.*, **32**, 205 (2004).
- 3) Maeda, H. et al. : *Int. J. Mol. Med.*, **18**, 147 (2006).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
067-05631	Fucoxanthinol	細胞生物学用	10mg	30,000
063-05633			100mg	260,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
067-05511	Fucoxanthin	細胞生物学用	10mg	20,000
063-05513			100mg	150,000

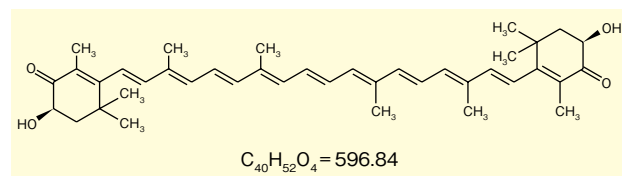
高い抗酸化作用

Wako

アスタキサンチン

アスタキサンチンは、抗酸化作用を示すカロテノイドの一つで、その抗酸化作用はビタミンEの100~1,000倍と言われています。アスタキサンチンは、エビ、カニなどの甲殻類、サケ、イクラ、オキアミ、藻などの海洋生物に多く見られます。遊離の状態やエステル体のほかに、タンパク質と結合した色素タンパク質としても存在しています。色素タンパク質は不安定で、加熱、有機溶媒の作用により分解し赤色に変化します。

本品は、ヘマトコッカス藻から抽出、精製したアスタキサンチンです。



製品概要

- 由来 : *Haematococcus pluvialis*
- 含量 (HPLC) : 94.0%以上
- 溶解性 : クロロホルムに可溶
- CAS No. : 472-61-7

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
013-23051	Astaxanthin, from Alga	細胞生物学用	10mg	15,000
019-23053			100mg	90,000

キナーゼ阻害剤ガイドブック発行



【ガイドブック掲載品目】

1. プロテインキナーゼ阻害剤
2. プロテインキナーゼ C (PKC) 阻害剤
3. サイクリン依存性キナーゼ (CDK) 阻害剤
4. MAP キナーゼ阻害剤
5. プロテインチロシンキナーゼ (PTK) 阻害剤
6. Akt 阻害剤

ライフサイエンス研究における主要な阻害剤を集約した〈和光純薬工業のガイドブックシリーズ〉の第一弾として「キナーゼ阻害剤ガイドブック」を発行しました。プロテインキナーゼ阻害剤71種をはじめ、約230種のキナーゼ阻害剤を分野別に掲載。作用機序、特長、用途、 IC_{50} 値をわかりやすくまとめました。持ち運びにも便利なB5サイズ。研究活動において実用的にご活用いただけます。ガイドブックシリーズ第二弾「抗生物質ガイドブック」も近日発行予定!

カタログ請求先 : <http://wako-chem.co.jp/siyaku/catalog.htm>

耐熱性 Avidin 様タンパク質 Wako タマビジン[®] 2, 組換え体

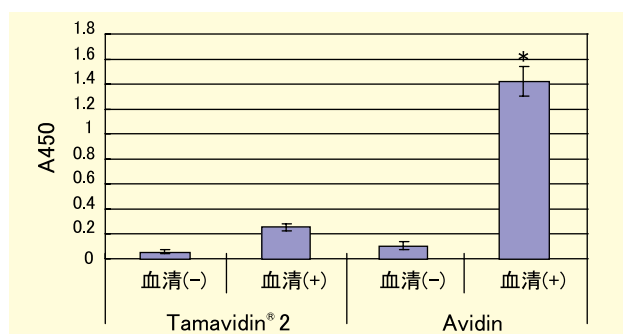
本品は、キノコの一つであるタモギタケ (*Pleurotus cornucopiae*) からクローニングしたアビジン様タンパク質の可溶性組換えタンパク質です。アビジン及びストレプトアビジンと同様に、アビジン-ビオチン結合を用いた免疫学的検出法に使用できます。

製品概要

- 構造：4つのサブユニット（約 15.5 k）からなる四量体。各サブユニットは1つのビオチン結合部位を有し、5つのチロシン残基をもつ。
- 起源：*E. coli* expressed *Pleurotus cornucopiae* Tamavidin[®] 2
- 活性：ラベルに記載（8～14 units/mg（HABA 法, pH 5））
- 分子量：約 60 k（四量体）
- 耐熱性：蛍光標識ビオチンを用いたアッセイ系で測定。
T_m = 85°C

使用例

各アビジン様タンパク質固定化疎水プレートにおけるヒト血清の非特異結合



アビジンコートプレートよりも、Tamavidin[®] 2 コートプレートの方がヒト血清 IgG の非特異吸着は少なかった。
(Tamavidin[®] 2 に対する t-test: * $p < 0.001$, $n = 8$)
t-test: 統計学的検定法
 $p < 0.001$ 著明な有意差あり

参考文献

1) Takakura, Y. et al.: *FEBS J.* **276**(5), 1383 (2009).

ライセンスについて

Tamavidin[®] は日本たばこ産業株の登録商標です。本品は、日本たばこ産業株からライセンスを受けて製造販売しております。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
209-18261	Tamavidin [®] 2, recombinant	免疫化学用	1mg	照会
205-18263			5mg	照会

2-メルカプトエタノールに代わる還元剤 Wako 3-メルカプト-1, 2-プロパンジオール トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン塩酸塩

毒物及び劇物取締法に指定されている2-メルカプトエタノールに代わる還元剤を新たに発売しました。3-メルカプト-1, 2-プロパンジオール、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン塩酸塩ともに2-メルカプトエタノールと同程度の性能を有することをSDS-PAGEにより確認しております。また、分子生物学用グレードとして、DNase 活性、RNase 活性確認済みです。

物性比較

品名	外観	香り
2-メルカプトエタノール	無色澄明液体	不快臭
3-メルカプト-1, 2-プロパンジオール	無色澄明液体	わずかに硫黄臭
(±)-ジチオトレイトール	白色粉末	わずかに硫黄臭
トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩	白色粉末	無臭

使用例



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
139-16452	3-Mercapto-1,2-propanediol	分子生物学用	25ml	5,000
131-16451			100ml	14,000
201-18221	Tris(2-carboxyethyl)phosphine Hydrochloride [TCEP-HCl]	分子生物学用	1g	照会
207-18223			5g	照会

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
131-14572	2-Mercaptoethanol, 99%	分子生物学用	25ml	2,500
133-14571			100ml	5,600
044-29221	(±)-Dithiothreitol	分子生物学用	100mg	2,800
040-29223			1g	4,200
048-29224			5g	10,000
042-29222			25g	35,000

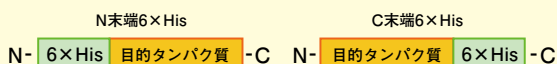
新製品追加ラインアップ!!



抗 6×His, モノクローナル抗体

6×His タグを認識するモノクローナル抗体は、現在 4 クローン由来の製品を販売しております。目的に応じた選択が行えるよう、セレクションガイドを作成しましたのでご活用下さい。なお、目的の融合タンパク質の性質（分子量、高次構造など）によっては、抗原抗体反応が影響を受け、ガイドと異なる結果になる場合もありますのでご了承下さい。

セレクションガイド My Best His タグ抗体を選ぼう!!



■ セレクションテーブル

クローン No.	タグの位置	ウエスタンブロット (WB)		免疫沈降 (IP)		ELISA
		N 末端	C 末端	N 末端	C 末端	
9F2	C 末端	ND	+++++	ND	++	ND
9C11	N・C 末端	+++++	++++	+++++	++	○
21-48	N・C 末端	+++	++++	+++	+++	○
28-75	N・C 末端	++	++	+++++	+++++	○
9F2 (HRP)	C 末端	ND	+++++			ND
9C11 (HRP)	N・C 末端	+++++	++++			◎

ND : Non Detection

性能の詳細データの開示に関しましては、当社お客様相談室までお問合せ下さい。上記表は当社内での検討によるもので、すべての 6×His 融合タンパク質に共通の性能を示すものではありません。

■ セレクション Q&A

Q : N 末端 6×His の検出に最適なクローンは?	A : 9C11 (WB) 9C11 (IP)、28-75 (IP)
Q : C 末端 6×His の検出に最適なクローンは?	A : 9F2 (WB) 28-75 (IP)
Q : N・C 両末端 6×His を認識できて WB に最適なクローンは?	A : 9C11
Q : N・C 両末端 6×His を認識できて IP に最適なクローンは?	A : 28-75
Q : WB・IP に使用できるオールマイティーなクローンは?	A : 21-48
Q : WB で高感度なクローンは?	A : 9C11
Q : IP で高感度なクローンは?	A : 28-75
Q : C 末端 6×His を認識する最も安価なクローンは?	A : 9F2
Q : N 末端 6×His を認識する最も安価なクローンは?	A : 21-48

使用濃度・希釈倍率

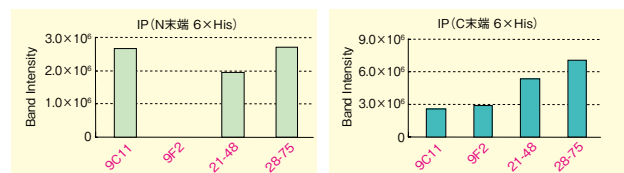
クローン No.	使用濃度・希釈倍率	
	ウエスタンブロット (WB)	免疫沈降 (IP)
9F2	1 : 1,000 ~ 1 : 10,000	5 ~ 10µg/assay
9C11	1 : 1,000 ~ 1 : 10,000	2 ~ 10µg/assay
21-48	1 : 500 ~ 1 : 5,000	5 ~ 10µg/assay
28-75	1 : 500 ~ 1 : 2,000	1 ~ 10µg/assay
9F2 (HRP)	1 : 4,000 ~ 1 : 16,000	—
9C11 (HRP)	1 : 4,000 ~ 1 : 16,000	—

使用例

■ ウエスタンブロットにおけるバンド強度の定量結果 (Multi Gauge)



■ 免疫沈降におけるバンド強度の定量結果 (Multi Gauge)



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
010-21861	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (9F2)	免疫化学用	200µg	30,000
NEW 011-23091	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (9C11)	免疫化学用	200µg	40,000
NEW 017-23211	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (21-48)	免疫化学用	200µg	35,000
NEW 014-23221	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (28-75)	免疫化学用	200µg	40,000
NEW 013-23171	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (9F2), HRP	免疫化学用	100µl	36,000
NEW 010-23181	Anti 6×His, Monoclonal Antibody (9C11), HRP	免疫化学用	100µl	45,000

新製品追加ラインアップ!!



タグ抗体ビーズ

タグペプチド

HA タグまたは c-Myc タグを認識する高品質なアフィニティービーズと、ペプチド溶出用の高純度精製ペプチドを大好評の DYKDDDDK タグに続きラインアップしました。

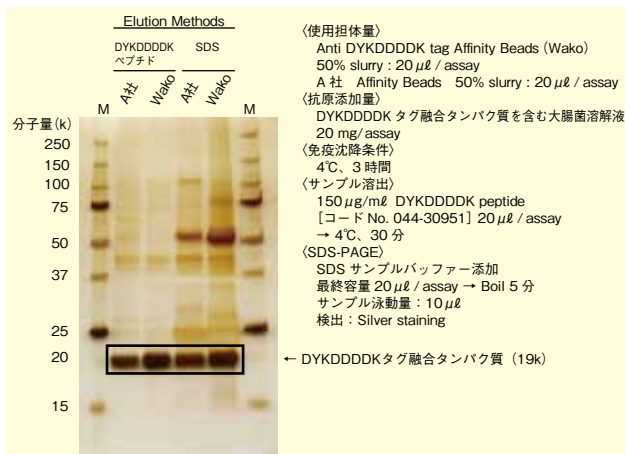
[次頁に続く]

タグ抗体ビーズ一覧

	DYKDDDDK タグ抗体ビーズ	HA 抗体ビーズ	c-Myc 抗体ビーズ
組成	1×PBS (pH 7.4), 50% glycerol, 0.02w/v% sodium azide.		
使用担体	4% アガロース		
抗体結合量	7.5mg/ml	8.5mg/ml	
結合抗体クローンNo.	1E6	4B2	9E10
結合抗体サブクラス	IgG1		
抗原結合容量/ 1ml ビーズ	約1.0mg	約1.5mg	約0.9mg
全容量	1.8 ~ 2.1ml/ml ビーズ (50%懸濁液)		
保存条件	-20℃		

使用例

Anti DYKDDDDK tag Antibody Beads



DYKDDDDK タグ融合タンパク質 (約19k) を過剰発現させた大腸菌ライセートを調製し、本品とA社品で免疫沈降後、DYKDDDDK ペプチド及び、2% SDS で抗原溶出を行った。得られた抗原サンプルを SDS-PAGE により分離し、銀染色により抗原回収効率を検出した。その結果、A 社品よりも抗原回収効率が高いことが示された。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
タグ抗体ビーズ				
012-22781	Anti DYKDDDDK tag Antibody Beads	免疫化学用	1ml	48,000
018-22783			5ml	90,000
016-22784			25ml	290,000
014-23081	Anti HA Antibody Beads	免疫化学用	1ml	65,000
010-23083			5ml	150,000
017-23071	Anti c-Myc Antibody Beads	免疫化学用	1ml	65,000
013-23073			5ml	150,000
タグペプチド				
044-30951	DYKDDDDK Peptide	遺伝子研究用	5mg	18,000
040-30953			25mg	80,000
088-09161	HA Peptide	遺伝子研究用	5mg	30,000
084-09163			25mg	120,000
132-16361	c-Myc Peptide	遺伝子研究用	5mg	25,000
138-16363			25mg	100,000

RNA サンプルの電気泳動に!! Wako 2×RNA ローディングバッファー

本品は、RNA サンプルの電気泳動時に使用します。2種類の色素 (プロモフェノールブルー、キシレンシアノール FF) と変性剤としてホルムアミドが含まれています。ホルムアミドが含まれているため未変性ゲル電気泳動でも RNA を分離できます。

臭化エチジウムは転写効率を下げることが知られているため、ノーザンブロットには臭化エチジウムを含まないローディングバッファーをご使用下さい。

■ 2×RNA ローディングバッファー (臭化エチジウム含有)

組成: 95 v/v% Formamide, Deionized, 0.025 w/v% SDS, 0.025 w/v% Bromophenol Blue, 0.025 w/v% Xylene Cyanol FF, 0.025 w/v% Ethidium Bromide, 0.5 mmol/l EDTA

■ 2×RNA ローディングバッファー (臭化エチジウム不含)

組成: 95 v/v % Formamide, Deionized, 0.025 w/v % SDS, 0.025 w/v% Bromophenol Blue, 0.025 w/v% Xylene Cyanol FF, 0.5 mmol/l EDTA



変性アガロースゲル電気泳動において、プロモフェノールブルー、キシレンシアノール FF が確認できた。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
185-02561	2×RNA Loading Buffer with Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1ml	6,000
182-02571	2×RNA Loading Buffer without Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1ml	5,500

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
194-15881	SuperSep™ RNA, 15%, 17well	電気泳動用	5枚	12,000
311-07361	ISOGEN II	ニッポンゼン	100ml	28,000

RNA 分離用



スーパーセップ™ RNA

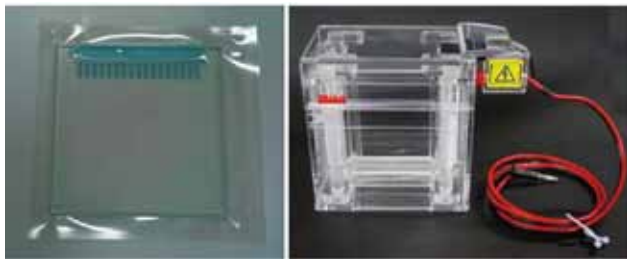
本品は、4 mol/l 尿素入りの変性ポリアクリルアミドゲルです。Ready-to-use のプレキャストゲルですので、尿素の溶解やゲル作製の手間が省けます。アクリルアミド濃度は15%です。

特長

- Ready-to-use のプレキャストタイプ
- 4 mol/l 尿素入り 15% 変性ゲル

仕様・泳動条件

- アクリルアミド濃度：15%
- 尿素濃度：4 mol/l
- プレートサイズ：100 × 100 × 3 (mm)
- ゲルサイズ：90 × 85 × 1 (mm)
- ウェル数：17ウェル
- ウェル容積：25 μl
- 使用期限：製造日から6ヶ月
- ローディングバッファー：80% Formamide, Deionized 0.025w/v% Bromophenol Blue 0.025w/v% Xylene Cyanol FF 10 mmol/l EDTA (pH 8.0)
- ランニングバッファー：TBE
- 電気泳動槽：EasySeparator™
- 電流：10mA/枚

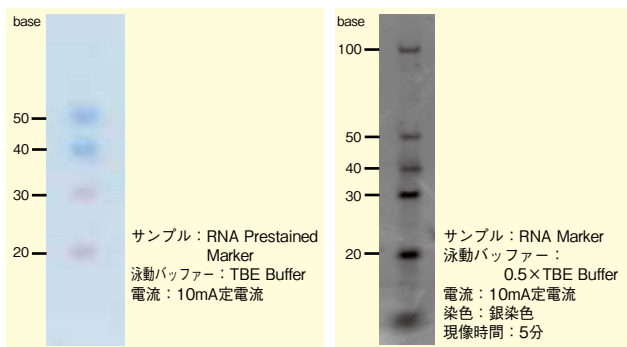


SuperSep™ RNA

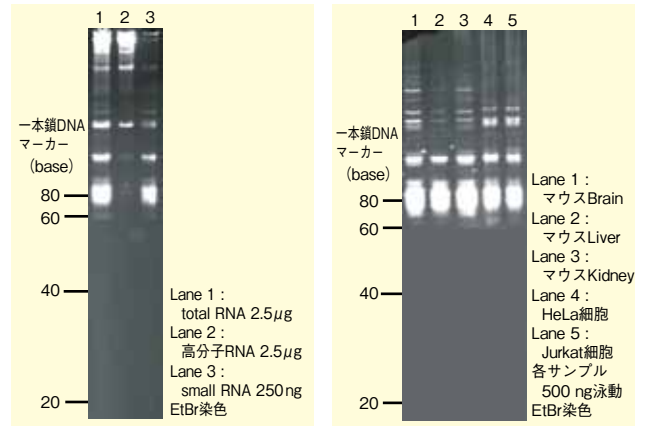
EasySeparator™

使用例

RNA Marker の電気泳動



ISOGEN IIで抽出したRNAの電気泳動



- (1) ISOGEN II のプロトコールに従って、HeLa細胞から RNA を抽出し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。
- (2) ISOGEN II を用いてさまざまなサンプルから small RNA を抽出し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。

コード No.	品名	規格	容量	経銷入価税(円)
194-15881	SuperSep™ RNA, 15%, 17well	電気泳動用	5枚	照会

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	経銷入価税(円)
SuperSep™ 専用電気泳動槽				
058-07681	EasySeparator™	電気泳動用	1セット	45,000
RNA 抽出試薬				
311-07361	ISOGEN II	ニッポンジーン	100ml	28,000
315-90291	Acid Phenol, pH 4.2	ニッポンジーン	100ml	6,400
318-90203	DEPC treated Water	ニッポンジーン	100ml×6	15,600
312-01791	Ethachinmate	ニッポンジーン	0.2 ml	15,000
077-05311	Glycogen Solution (abt. 20mg/ml), from Mussel	分子生物学用	1ml	11,500
RNase 阻害剤				
183-02481	Ribonuclease Inhibitor (Super)	遺伝子研究用	2,500units	30,000
189-02483	Ribonuclease Inhibitor (Super)	遺伝子研究用	10,000units	80,000
180-01891	RNAstabilizer, Irreversible RNase Inactivation Reagent	遺伝子研究用	50 テスト	13,000
サイズマーカー				
317-06263	RNA Ladder (0.125-6.0 kb)	ニッポンジーン	25 μl×2	16,000
ランニングバッファー				
318-90041	5×TBE	ニッポンジーン	1,000ml	9,000
ローディングバッファー				
185-02561	2×RNA Loading Buffer with Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1ml	6,000
182-02571	2×RNA Loading Buffer without Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1ml	5,500
染色剤				
051-07811	Ethidium Bromide	遺伝子研究用	1g	5,000
057-07813	Ethidium Bromide	遺伝子研究用	5g	14,200
315-90051	EtBr Solution	ニッポンジーン	10ml	9,000
311-03961	CLEAR STAIN Ag	ニッポンジーン	20 枚用	35,000
519-20301	GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in Water	Biotium	0.5ml	28,400
518-24031	GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in DMSO	Biotium	0.5ml	27,000
517-53333	GelGreen™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in Water	Biotium	0.5ml	28,000
551-93331	GelGreen™ Nucleic Acid Gel Stain, 10,000× in DMSO	Biotium	0.5ml	23,000
エチジウムブロマイド分解剤				
303-89321	EtBr Destroyer Bag	FAVORGEN	20 個	25,400
300-89331	EtBr Destroyer Sprayer	FAVORGEN	200ml×2本 スプレーヘッド	12,000
RNA 合成				
307-13531	CUGA® 7 in vitro Transcription Kit	ニッポンジーンテ	20 反応	30,000

高分子RNA、small RNA、total RNA を効率よく単離



ISOGEN II

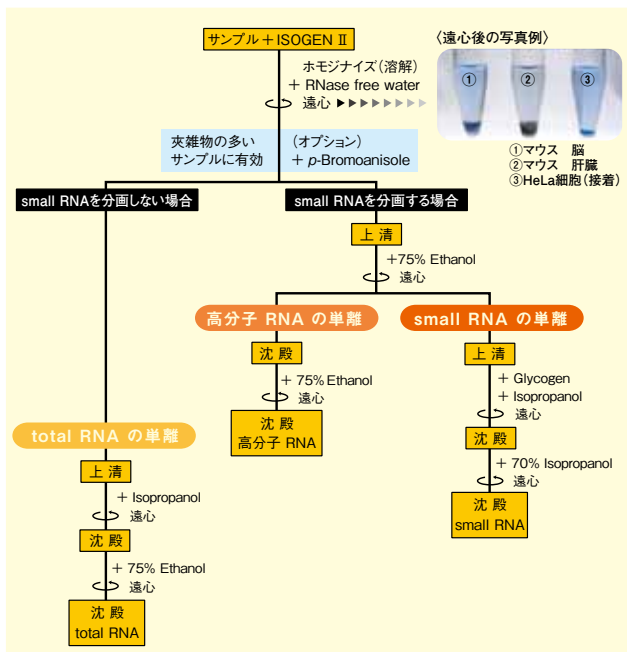
ISOGEN II (アイソジェンII) は、動物組織及び培養細胞からtotal RNAやsmall RNAを抽出する試薬です。

フェノールとグアニジンを含む均一な液体であり、細胞成分との相互作用により、シングルステップでRNAを単離できます。従来法の試薬 (ISOGEN、ISOGEN-LS) のようにクロロホルムを用いた液相分離の必要がありません。試料にISOGEN IIを加えて溶解またはホモジナイズした後、水を添加すると、DNA、タンパク質、ポリサッカライドなどは沈殿 (不溶化) するため、遠心分離によって除去できます。上清をエタノール沈殿、洗浄、溶解すると、高純度なRNAが単離できます。

特長

- クロロホルムを使用しない
- 従来法の試薬 (ISOGEN など) よりも small RNA の抽出効率が良い
- 高分子 RNA (> 200 bases) と small RNA (< 200 bases) を分画できる (分画しない方法もある)
- DNA の混入が少なく、抽出した RNA はそのまま RT-PCR や定量 RT-PCR に使用できる
- 約 1 時間で RNA が抽出できる

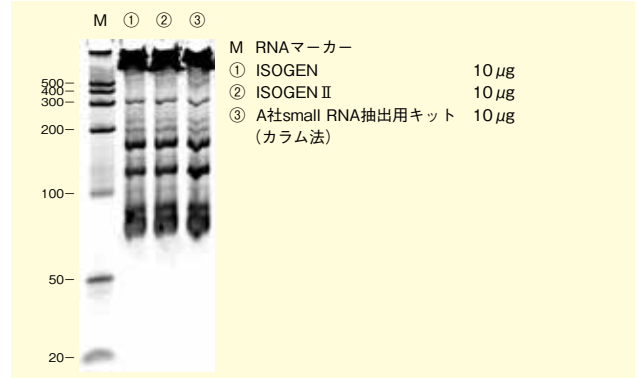
操作フロー



詳細はホームページをご覧ください。
<http://www.nippongene.com>

使用例

total RNAの抽出



収量及び純度

使用キット	OD値 260/280	OD値 260/230	回収量 (μg)
ISOGEN	2.175	2.099	105
ISOGEN II	2.169	2.087	81.6
A社	2.148	1.898	114

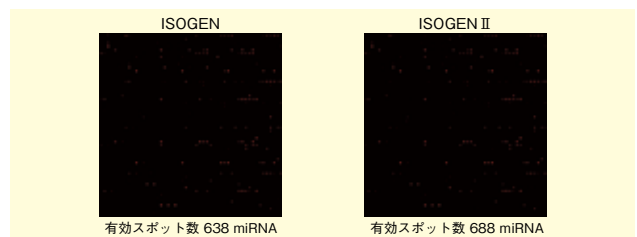
※ISOGEN IIのtotal RNA回収量が他と比べて少ないが、これはISOGEN IIプロトコルで上清の回収量を1ml (上清全量の75%) としているためです。

ISOGEN、ISOGEN II及びA社small RNA抽出用キットを用いて 1×10^6 cellsのHeLaS3子宮頸がん細胞株からtotal RNAを抽出。8mol/l UREA変性ポリアクリルアミドゲル (7.5%) にて電気泳動を行った。

ISOGEN IIはA社small RNA抽出用キットと比較して、遜色ない抽出効率でsmall RNAを含むtotal RNAを抽出できる事が確認できた。

(データご提供: 東京大学医科学研究所 感染免疫部門・宿主寄生体学分野 水谷壮利先生)

miRNAの検出



ISOGEN及びISOGEN IIを用いて抽出したtotal RNAを、“3D-Gene” Human miRNA Oligo chip (東レ株式会社) にて解析した。ISOGEN、ISOGEN IIのどちらの試薬で抽出したtotal RNAも、miRNAが検出できたが、ISOGEN IIの方が、得られた有効スポット数が多かった。

コードNo.	品名	容量	希望納入価格 (円)
317-07363	ISOGEN II	10ml	9,000
311-07361		100ml	28,000

関連商品

DNase活性、RNase活性チェック済み

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
027-16801	<i>p</i> -Bromoanisole	分子生物学用	1ml	7,000

※ 夾雑物が多いサンプルの場合、オプション操作で使用します。

ロバート・ボイル (1627. 1. 25 ~ 1691. 12. 30)

科学史家 島尾 永康

リチャード・ボイル

イギリスはテューダー期 (1485 - 1603) からステュアート期 (1603 - 1714) にかけて、アイルランドに冒険者を送り込み、征服と植民によってアイルランドをイギリス最初の植民地とした。現地の反乱者から没収した土地は、イギリス女王の側近、商人、法律家などにきわめて低廉な免役地代で永代借地として配分された。イギリスのカンタベリー生まれのリチャード・ボイル (1566 - 1643) は、22歳で徒手空拳アイルランドに渡り、没収地管理官となり、エリザベス女王の時代にアイルランドに来たもののうち最大の成功者となった。最初の妻が死ぬと、アイルランド大臣、サー・ジョフリー・フェントンの娘、キャサリンと再婚し、その持参金でエリザベス朝の有名な廷臣、サー・ウォルター・ローリーの42000エーカーの領地を買った。やがて初代コーク伯爵となり、1630年代には、年取2万ポンド、アイルランドの最富裕者で最有力者の一人となっていた (図2)。

ロバート・ボイルの生い立ち

ロバート・ボイルは1626/7年1月25日 (当時はユリウス暦で、新年は春分の日に始まったから、このように記す) に、キャサリンを母として、アイルランド、マンスターのリズモア城で生まれた。リチャードの14人の子の末っ子で、7男。当時の風習で生まれるとすぐ、丈夫に育つよう3、4年ほどアイルランドの農家に里子にだされた。母はロバートが3歳のとき死んだ。母を知らずじまいだった。支配的で、子供たちには畏怖の的だった父



図2. リチャード・ボイルの肖像。



図1. ロバート・ボイル肖像 (37歳)。銅版画、1664年、ウィリアム・フェイソーン作。当時の肖像画の背景としては異例の、ボイルの空気ポンプが、「実験哲学者」としての名声を象徴する。

は、多数の子供をアイルランドの有力な地主やイングランドの貴族と政略結婚させた。ロバートは末っ子として父から特別に可愛がられ、遺産としてイングランドのドーセットのストールブリッジの城館をもらった。成人したロバート・ボイルは年取3千ポンド、17世紀でこの収入は大富豪であるという。この財力とアングロ・アイリッシュのすべての大家族との血縁関係を背景として、ボイルは17世紀中葉のイギリス科学の指導的存在となった (図1)。

ロバートは8歳のとき、5歳年長の兄フランシスとともにイートン校へ遣られた。4年後、フランス人家庭教師同伴でスイスに行き、ジュネーブで教育を受けた。大学で学ぶことなく、もっぱら大陸で教育を受けたボイルは当時でも異例である。他の兄弟の政治志向とは異なり、ロバートは学究的で、知的探究にのみ関心があった。しかし多病だった。11歳のとき激しい咳をとまなうおこり (マラリア) に罹った。これが生涯を通じてときおり再発し、ほとんど死にかけたこともある。腎臓結石もあった。譫妄状態でうわごとを口走る癖にも悩まされた。27

歳のときの大病の後遺症として視力が低下した。一時的なものと思っていたら、その後の生涯、弱視に悩んだ。血液循環の原理の発見で有名なハーヴェイに診てもらったこともある。眼が悪かったにもかかわらず科学、哲学、神学に関する膨大な著作をのこしたが、すべて口述筆記だった。生涯長い時期にわたって実験をしたが、実験結果の観察と記録も助手が頼りだった。幼少からの吃音も生涯残った。父のつよい圧力や母の早死など、複雑な幼少期のトラウマに起因すると言われる。後年、王立協会の代表的科学者ボイルと面会した、ある外国の賓客はボイルの吃音を記録している。生涯独身だった。

1642年、アイルランドに内乱が起こりリズモア城が包囲されたという知らせに兄は急きょ帰国したが、若年のロバートは大陸に残った。父は翌年に死んだ。王党・国教派と議会派・ピューリタンとが戦った内戦 (イギリス革命) では、ボイルの一族はほとんどが王党側だった。2年後帰国したロバートは、幼児のころから母親代わりだった姉キャサリンと再会した。嫁して子爵夫人、レディ・ラネラーとなっていた12歳年長の、聡明なその姉は、政治問題にも明確な態度をもっており、ロンドンとアイルランドで政治活動をしていた (図3)。王党につこうとしたロバートを議会派に転向させ、その有力者に紹介して、父からの遺産の領地を確保したのはこの姉である。彼女の友人には詩人ミルトンを始め、指導的なピューリタン知識人たちがいたが、それらを紹介してボイルの人脈



図3. 姉キャサリンの肖像。

形成に大きな役割を果たした。ボイルは遺産の城館の経営に過ぎつつ、ボイルのいわゆる「インヴィジブル・カレッジ」の知識人たちと交流し、化学実験や動物の解剖をおこなった。

科学研究の中心地オクスフォードへ

活気あふれるイングランドの科学の中心地オクスフォードへ移転したのは、ボイルの生涯の重要な転機となった(1655)。そこにはピューリタン革命期に多くの科学者がロンドンから移ってきて、実験哲学グループを形成しており(1651)、オクスフォードの長い歴史でも稀に見る活況を呈していた。ボイルは財力に任せて、自宅に研究設備を整え、助手を雇い(フックもその一人である)、新しい科学機器をつくった。それは人々が集うリサーチ・センターになった。しかしやがて国内は政治的混乱のうちに1660年に王政復古となり、オクスフォードの議会派の科学者たちは追放されてロンドンへ移り、そこの科学者たちと合流して、王党と議会派を問わず、科学を推進するための組織の設立を発議した(1660)。ボイルもその発起人の一人となった。それは国王チャールズ2世の認可を得て王立協会となった。ボイルは大ボイル家の代表として、また科学界の代表者としてしばしば宮廷を訪れた。国王は貴族の爵位か高位の僧職のいずれかを与えようとしたが、いずれも受けず、受けたのはアイルランドと新世界へプロテスタントのキリスト教を伝道する、ニュー・イングランド伝道協会総裁の地位だった(図4)。



図4. ボイルが総裁(1662-1689)を務めた、ニュー・イングランド伝道協会の封印。インディアンが弓矢を捨てて、聖書を手にしている。

空気ポンプと空気学

ボイル兄弟が大陸遊学中にフィレンツェに滞在した1641-42年の冬、ガリレオが死んだ。そのガリレオについて学んだトリチェリが上端を密封して水銀中に沈めたガラス管を起こすと、管内に29.75インチ(約76センチ)の水銀柱が作られ、その上は空になることを示した(1643)。その水銀柱を支えているのは空気層の重さ、すなわち大気圧であるとした。「われわれは空気の深海の底で生活している」と表現した(トリチェリ, 1644)。真空と大気圧の発見こそはガリレオの望遠鏡観察に匹敵する発見であり、また16世紀の地動説に次ぐ発見とも言われる。バスカルはトリチェリの実験を追試して、山頂と山麓での水銀柱の高さを比較した。空気ポンプ(真空ポンプ)を発明したのはドイツの自由都市マグデブルグの市長オットー・フォン・ゲーリケである。二つの金属の半球からなる球を排気すると、16頭の馬でも大気圧に抗して半球を引き離せなかったという有名な公開実験をおこなった(1654)。

ゲーリケの空気ポンプの発明を知ったボイルは、それが有力な科学機器になりうると見て取り、助手フックに受器をガラス球として、その中に実験対象物を入れられるような空気ポンプを設計させた。1年ほどで新しい空気ポンプの製作に成功した(1658)。ガラス球の容量は30クオート(約34.08リットル)である(図5)。新しい科学機器である空気ポンプの製作には莫大な費用がかかり、相当な資金力があって初めて可能だった。ドイツのゲーリケも、イギリスのボイルもいずれも裕福だった。その技術は複雑で困難なものだった。空気ポンプは当時のビッグ・サイエンスであり、いわば17世紀のマイクロトロンだった。空気ポンプは王立協会の科学機器の目玉として耳目を惹いた。王立協会の見学に訪れたチャールズ2世は、「一日中、空気の重さを測っているだけとは！」



図5. ボイルの最初の空気ポンプ。『空気の弾力』(1600)の図版。

と笑った。

王立協会の設立と同年に、ボイルは最初の科学書、『空気の弾力とその効果に関する物理学的・力学的な新実験』(1660)、『空気の弾力』と略称する)をオクスフォードで出版した。ボイルの従兄弟への手紙の形で書かれており、空気の弾性を巧みな実験によって証明した、画期的な書物である。これによって一挙に名声を確立した。しかし真空の存在を認めず、水銀柱を支えているのは大気圧ではなく、別の力だとするリヌスやホプスの批判が現れ、ボイルはこれに反論しなければならなかった。

空気ポンプは真空空間を創り出す手段である。真空の利用が可能になった。ボイルはこれによって空気の諸性質を研究した。空気学(pneumatics)の創始である。ボイルがとくに興味をもったのは、空気の弾力であり、その大きな圧縮性と膨張性である。上記の著書で最初に述べた実験は、子羊の2個の膀胱の一方にいくらかの空気を入れ、他方は空にして、ともに口を縛り、真空中に入ると、わずかに空気を入れたほうは膨張するという実験である。より重要なのは空気ポンプ内でのトリチェリの実験である。その他、真空中の落体の実験、真空中では音は伝播しないこと、空気が呼吸と燃焼に

不可欠であること、果実や野菜の中に空気（二酸化炭素）が含まれていることなど、次々に実験を考案した。空気を排気しても、真空中にはなお空気より微細な物質が残っているのではないかという見地から、微細物質の検証実験もおこなわれたが、その存在を確認するにいたらなかった。

空気の弾性については、空気の構成粒子のひとつひとつが羊毛の一片のように弾性をもつという考え方と、空間全体に充滿しているデカルトのいう微細なエーテルの運動によって空気の粒子が運動し、その結果、空気全体として膨張するという考え方があったが、空気の弾性を説明するのではなく、空気に弾性があることを示すことだけが目的である、とボイルは記している。

ボイルの法則

閉じ込められた気体の定温における圧力と体積の関係の法則は、ボイルの法則と呼ばれるのが普通である。たしかにそれを最初に発表したのはボイルである。それは上記のボイルの最初の科学書、『空気の弾力』ではなく、その第2版（1662）の付録、「リヌスとホプスの反論に対する、空気の弾力と重さの理論の弁護」の第V章、「圧縮された空気と膨張した空気の弾力の度合いについての二つの実験」で発表された。ボイルは真空中でのトリチェリの水銀柱の観察から、J字管の先に閉じ込められた空気の量と、水銀柱の高さ、重さ、体積との関係に、ある仮説があるのではないかと考えた。まずJ字管の先にできた空間へ、管を傾けて少量の空気を送りこみ、それを大気圧と同じにした。閉じられた空気の体積が半分になるときは、開いた方の水銀柱は29インチになるはずだった。「水銀の注入をつづけていき、短い方の空気が半分になったとき、長い方の水銀の高さが29インチだったのを見て、喜びと満足を禁じえなかった、」とボイルは記している。ボイルは管の両方の水銀面の差が88インチになるまで実験した。こうして「圧力と膨張

は反比例する」ことを確認した。そこにつけられた加圧と減圧の二つの場合の測定値の表は、科学書に測定値が現れた最初の例と言われる（図6）。

圧縮した空気の実験をしたボイルは、タウンレーの膨張した空気の実験に言及している。タウンレーとパウワーは1653年にハリファックスの丘を上下してトリチェリの実験の追試（ということはパスカルの追試）をした。1600年にボイルの著書が出ると、空気に弾力（圧力）があるという考えに刺激されて再実験し、大気圧以下の異なる圧力での実験によって、圧力と体積の積が一定という関係をつかんだ。1661年4月、かれらはその草稿をロンドンの協会（王立協会の前身）の記録係に連絡した。当時の習慣ではそれは関心のある者に回されることになっており、ボイルの手に入った。（1665年にオルデンプルグが王立協会の『フィロソフィカル・トランザクションズ』を創刊して、科学論文が投稿できるようになる前のことである。）ボイルはこれをタウンレーの想定として言及している。そこでボイルの圧倒的な名声の陰に隠れたこのマイナーな研究者たちにも、この法則の発見の先取権が与えられてしかるべきではないかという議論がある。

しかしボイルはさらに言う。「タウンレーの想定の話がある人にしたところ、かれはその実験なら自分も昨年同じ目的の実験をやった、タウン

レーの理論とよく一致するのを認めたと言った、」と。ここである人とはフックのことである。フックによれば、圧縮の実験を先におこない、タウンレーの仮説を耳にする1年以上前の1660年夏に、膨張の実験もおこなったという。そこでフックこそボイルの法則の発見者ではないかという論者もある。フックがボイルの助手を辞めたのち、ボイルには定量的研究はない（ボイルは1662年11月、フックを王立協会の実験主任に推薦した。）そもそも定量的法則はボイル的よりもフック的である。フックをひどく嫌っていたニュートンでさえも、これをフックの法則と2度も言っているが、ボイルの法則とは一言も言っていない。ではなぜフックは先取権を主張しなかったのか。雇い主と使用人の関係だったからであろうか。フックも少し遅れてではあるが著書、『ミクログラフィア』（1665）で、「圧力と膨張の積はつねに一定」と明確に発表している。ボイルの装置と類似のものを使い（J字管はフックが先に使い始めたという）、同じように圧縮と膨張の二つの表を出している。アンドレード、バーナル、コーエンなど、物理学者や物理学出身の科学史家は、フックこそこの法則の真の発見者と断定している。ボイルが主張できるのは発表の先取権だけだとコーエンは言う。しかし先取権は発表によって確立されるものである。この法則の発見者といわれるものには、ボイル、ブラウンカー、フック、パウワー、タウンレー、マリオットの6人がいる。このうちマリオットの発表（1676）は明らかに遅い。王立協会の初代会長ブラウンカーの研究については詳しくは分からない。この仮説を着想し、それを検証する巧妙な実験を考えたボイルの功績を否定するなどはもつてのほかであり、ボイルの法則は正当な命名であるという見解は勿論ある。マーティンのいわゆる多重同時発見の一つということであろう。

A Table of the Condensation of the Air.

A	B	C	D	E
48	12	100	197	197
44	11	100	188	188
40	10	100	180	180
36	9	100	172	172
32	8	100	164	164
28	7	100	156	156
24	6	100	148	148
20	5	100	140	140
16	4	100	132	132
12	3	100	124	124
8	2	100	116	116
4	1	100	108	108
3	1	100	100	100

A. The number of equal spaces in the shorter leg, that contained the same parcel of Air diversely extended.
 B. The height of the Mercurial Cylinder in the longer leg, that compr'd the Air into those dimensions.
 C. The height of a Mercurial Cylinder that counterbalanc'd the pressure of the Atmosphere.
 D. The Aggregate of the two last Columns B and C, exhibiting the perfect fit obtained by the included Air.
 E. What that pressure should be according to the Hypothesis, that supposes the pressures and expansions to be in reciprocal proportion.

図6. ボイルの法則を示す図表。大気圧以下の実験の実測値。

その後のボイルの空気学研究

『空気の希薄化』(1671)は、ボイルの単行本の中では最も短い(53ページ)。水中の気泡への温度と圧力の影響を観察している。しかし気体の熱膨張係数は130年後のドルトンを持たねばならなかった。『空気の隠された質』(1674)は、オクスフォード出身のジョン・メイヨー(1641-79)の『医学的・自然学的研究』(1674)と同時に出版された。空気には2種類の粒子が含まれており、燃焼と呼吸ではその一つが空気から取られる、とほぼ同じことが述べられている。『続編、空気の弾力と重さ』(1669)には、「創意に富んだフック氏の示唆によって」改良された空気ポンプ2号機(図7)の説明がある。ドニ・パパン(1647-1712)がフランスで空気ポンプ3号機を製作し、それを携えて、ロンドンの姉の邸宅内にボイルがつくった研究室のリサーチ・グループに参加した。その成果が『続編第二、空気の弾力と重さ』(1680)である。死後出版である『空気の総説』(1692)は、空気に関するかれの最後の著書で、最終的な結論を要約している点で興味深い。たとえば空気について次のような定義がある。「私は空気を次のように理解して



図7. ボイルの空気ポンプ2号機(『ボイル著作集』、第三巻)。ピストンの革を濡らせておくためポンプは水中に沈めてある。(『ボイル著作集』、第三巻)。

いる。希薄で、流動的で、透明で、圧縮性と膨張性があり、われわれはその中で息をし、動いている。それは地球のすべての面を、いかに高い山よりも高く包んでいる。しかしそれは天体間または惑星間の空間のエーテル(または真空)とも異なり、月やその他の遠くの発光体の光線を屈折させる。」ボイルは、化学、色、光、電気、医薬、血液、錬金術など、扱わなかったものはないほど、広範な研究をした。しかしボイルの科学研究は空気に始まり、空気に終わっている。

新しい伝統の先駆

ボイルは三つの点で科学研究の新しい伝統の先駆者となった。第一は、迅速な発表である。『空気の弾力』は、真空実験でボイルに先行したトリチェリ、パスカル、ゲーリケらのいずれの著作よりも早く出版された。すべてが死後出版という著者もあるが、ボイルの著作はほとんど原稿のインクが乾かないうちに出版された。第二は謝辞である。他の研究者の功績を承認し、謝辞を書く習慣は1660年以前にはなかった。ガリレオ、デカルト、パスカルらは自分が依拠した先人の業績には言及しなかった。言及・謝辞によって先取権が制度化されることになる。とはいえそのボイルも気体法則に関しては、タウンレーとブラウンカーへの言及はあるが、パワーには言及せず、フックについても不明確な言及しかない。第三は、論文を帰納的な形式で詳細に書くことである。ステヴィン、ガリレオ、パスカルの著書は、幾何学的な命題の形式で書かれており、述べられている実験が実際におこなわれたか、またはありうる証明なのか、分からないことが多い。これに対してボイルは、実験の失敗例まで記した、異常なまでに詳しい実験レポートの形の論文を書いた最初の科学者である。

1668年、ボイルはオクスフォードをきっぱりと去り、ロンドンへ移った。すでに有力な科学者たちの多くがロンドンに移っていたという事情もあ



図8. ロバート・ボイル肖像(62歳)、油彩、1689年ヨーハン・ケルゼボーム画。遺影として遺すため、死の2年前に描かせた。少なくとも7点の複製がある。引く手あまたで、その配布はもめたという。

るが、最大の理由は、さまざまな関心事を共有できる姉キャサリンがいたからである。姉と同居すること23年間、病気になるのも一緒だった。キャサリンの死の1週間後、その後を追うようにボイルも死んだ(図8)。

【参考文献】

“The Works of Robert Boyle”, ed. by Birch, T., 6 vols. (1772).; Fulton, J. F.: “A Bibliography of Robert Boyle”, Oxford University Press (1961).; Hooke, R.: “Micrographia”, (1665), Dover edition (1961).; Conant, J. B.: “Robert Boyle’s Experiments in Pneumatics”, Harvard University Press (1950).; Webster, C.: “Richard Townley and Boyle’s Law”, *Nature*, **197**, 226-228 (1963).; Cohen, I. B.: “Newton, Hooke, and Boyle’s Law”, *Nature*, **204**, 618-621 (1964).; Hall, M. B.: “Robert Boyle on Natural Philosophy”, Indiana University Press (1965).; Webster, C.: “The Discovery of Boyle’s Law, and the Concept of the Elasticity of Air in the Seventeenth Century”, *Archive hist. of exact science*, 441-502 (1965).; Agassi, J.: “Who discovered Boyle’s Law?”, *Stud. Hist. Phil. Sci.*, **8**, 189-250 (1977).; “Robert Boyle rediscovered”, ed. by Hunter, M., Cambridge University Press (1994).; Hunter, M.: “Boyle Between God and Science”, Yale University Press (2009).; 山本義隆: 『熱学思想の史的展開』, 現代数学社 (1987), 文庫版 (2008).; 中島秀人: 『ロバート・フック』, 朝倉書店 (1997).; ヴァイグラー著、三島憲一訳: 『十七世紀のサイクロトロン』, 『現代思想』, 1988年3月号, 8-21. ; 『ボイル』, 科学の名著、第II期, 8, 朝日出版社 (1989).; 大野真弓編: 『イギリス史』, 山川出版社 (1965).

高分子固定化オスmium触媒

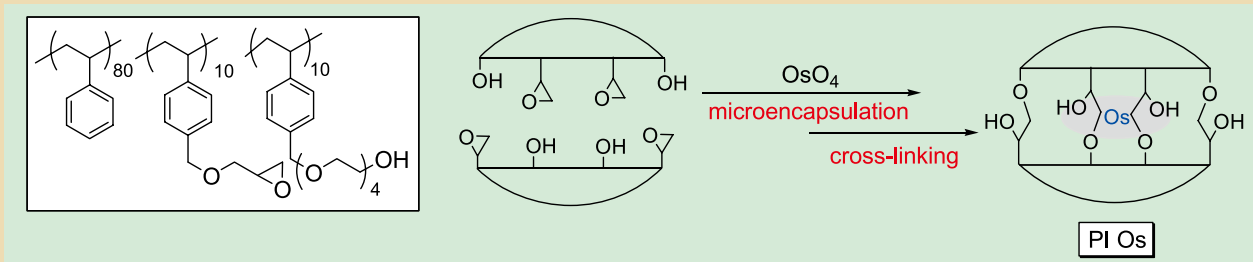


PI 酸化オスmium II 型

四酸化オスmiumの高分子カルセランド (Polymer-Incarcerated) 型触媒の新タイプを発売しました。本品は、オスmiumをポリマーに担持させるマイクロカプセル化技術とそれに続くポリマーの架橋反応によって調製された固定化触媒です (下図参照)¹⁾。

四酸化オスmiumはオレフィンのジヒドロキシル化反応に用いられています。しかし、昇華性があり、毒性が強いため取扱いに注意を必要とします。また、回収が困難であることから環境に与える影響も懸念されています。

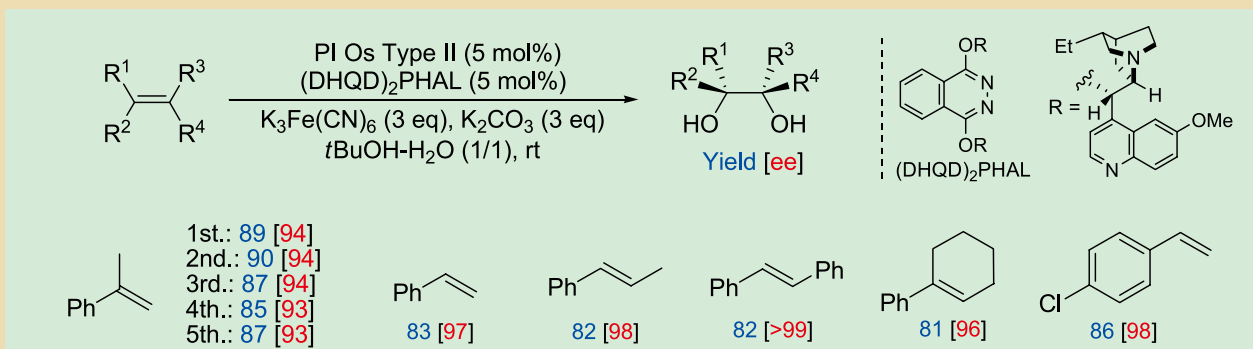
現在、これらの問題点を解決するため、高分子カルセランド型触媒 [PI Os] を販売しています。今回紹介するPI Osmium Oxide Type II [PI Os II] は、オスmiumを担持させるポリマーの分子量を大幅に増大させたことにより、従来品のPI Osに比べて高い耐溶剤性を有しています。スチレン誘導体で不斉ジヒドロキシル化反応を行うと、従来の触媒よりオスmiumの漏れ出しをさらに抑制し、高収率かつ高選択的に反応が進行します²⁾。



特長

- 反応生成物または原料との分離が容易 (触媒の回収が容易)
- 昇華性抑制による毒性、刺激臭の低減
- 繰り返し使用が可能
- 耐溶剤性向上によるオスmiumの漏れ出しを抑制

反応例



触媒の回収・再使用を α -メチルスチレンを用いて5回実施。活性の低下を伴うことなく高収率かつ高選択的にジヒドロキシル化物が得られます。また、さまざまなスチレン誘導体でも高収率かつ高選択的に目的物を与えます。

参考文献

- 1) 秋山良、小林修：日本化学会第90春季年会 1F6-39.
- 2) 三宅寛、秋山良、小林修：日本化学会第90春季年会 1F6-40.

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
160-24491	PI Osmium Oxide Type II 【PI Os II】	有機合成用	1g	25,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
163-24121	PI Osmium (VIII) Oxide 【PI Os】	有機合成用	1g	25,000
153-02081	Osmium (VIII) Oxide, Microencapsulated	有機合成用	1g	15,000
158-02411	Osmium (VIII) Oxide, PEM-Microencapsulated	有機合成用	1g	20,000

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、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとしては使用できません。

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. 78 No. 4
 2010年10月15日発行
 発行責任者 糸 博之
 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。
 Please contact us to get detailed information on products in this journal.

■ 和光純薬工業株式会社 (Japan) <http://www.wako-chem.co.jp>
 フリーダイヤル (日本のみ) 0120-052-099 / Tel 81-6-6203-3741
 フリーファックス (日本のみ) 0120-052-806 / Fax 81-6-6201-5964
 E-mail labchem-tec@wako-chem.co.jp

■ Wako Overseas Offices :
 ・ Wako Chemicals USA, Inc. <http://www.wakousa.com>
 Toll-Free (U.S. only) 1-877-714-1920
 Head Office (Richmond, VA) : Tel 1-804-714-1920 / Fax 1-804-271-7791
 Los Angeles Sales Office (Irvine, CA) : Tel 1-949-679-1700 / Fax 1-949-679-1701
 Boston Sales Office (Cambridge, MA) : Tel 1-617-354-6772 / Fax 1-617-354-6774
 ・ Wako Chemicals GmbH <http://www.wako-chemicals.de>
 European Office (Neuss, Germany) : Tel 49-2131-311-0 / Fax 49-2131-311100