

〔総説〕

「細胞性粘菌由来の生物活性物質 DIF-1, DIF-2, DIF-3」

久保原 禪…………… 2

「ゲノムワイドなメチル化 DNA 解析」

渡辺 亮…………… 7

〈テクニカルレポート〉

「高感度 Bisulfite 法の開発」

林田 幸信…………… 10

「Presep[®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) の開発」

久保田 守…………… 12

〔化学大家〕

「ヘンリー・G.J. モーズリー」

島尾 永康…………… 28

〔製品紹介〕

環境・分析

プレセップ [®] (ルアーロック)シリカゲル(HC-N) ……………	13
TraceSure [®] ……………	14
農業混合標準液、ホルムアルデヒド標準液 ……………	15
カビ臭標準品 ……………	15
ポジティブリスト関連標準品 ……………	16
生薬試験用標準品 ……………	16
ステビア抽出物 ……………	17
トリウンデカノイン標準品 ……………	18
3-MCPD 脂肪酸エステル標準品 ……………	18
三薬局方対応 医薬品試験用試薬 ……………	19
コンタミン [®] LS- II ……………	21

有機合成

脱酸素溶媒 ……………	20
電池研究用試薬 ……………	20

細胞生物

DIFs ……………	6
クリシン ……………	21
Hedgehog シグナル阻害剤 ……………	22
メラトニン ……………	23
近赤外発光ルシフェリンアナログ「アカルミネ [™] 」 ……	24
ワイドビュー [™] プレステインタンパク質サイズマーカーⅢ …	24
ノボジオシナトリウム ……………	25

培養

細胞培養用試薬 ……………	26
---------------	----

病理

サル組織切片 ……………	25
組織脱水溶液 100、99 ……………	25

遺伝子

EpiSight バイサルファイトコンバージョンキット ……	9, 11
SEM ヌクレアーゼ, 組換え体, 溶液 ……………	23
抗ヒト PIWIL2, モノクローナル抗体 ……………	32

1 はじめに

細胞性粘菌類は、世界中の森の落ち葉の下などに生息する土壤微生物（真核生物）で、古くから発生生物学や細胞生物学の「モデル生物」として利用・研究されてきた。細胞性粘菌類は、発生過程の最終段階でカビによく似た形状の子実体を形成するが、分類学的にはカビ（真菌）類とは異なる「界」（「原生生物界」or「変形菌界」）に属するユニークな生物群である。

ところで、同じ真核微生物である真菌類は、抗生物質を含む多くの生物活性物質を産生しており、創薬資源として人類に多大な貢献をしてきた。しかしながら、未だ治療法が確立されていない（治療薬がない）感染症や難病は少なからず存在するうえ、既存薬に対する耐性菌の出現や副作用の問題もあり、新規薬剤開発・創薬に対する社会的ニーズは大きい。

実は近年、細胞性粘菌類は「未開拓（未利用）創薬資源」としても注目されつつある¹⁾。本稿では、モデル生物としての細胞性粘菌を紹介しながら、創薬資源として注目されるキッカケともなった化合物「DIF-1、DIF-2、DIF-3」について概説したい。

2 細胞性粘菌の生活環

Dictyostelium discoideum（和名「キイロタマホコリカビ」）は、モデル生物としてもっともよく研究されている粘菌種で、その和名のごとく淡黄色の子実体を形成する（図1写真）。*D. discoideum*（以後、単に「粘菌」と呼ぶ）の生活環は、増殖期（単細胞期）と形態形成期（多細胞期）に大別される（図1）。

増殖期の粘菌アメーバ（単細胞、半数体）は、周囲の細菌を食べながら二分裂で増殖をする。飢餓状態になると、粘菌アメーバは集合して多細胞

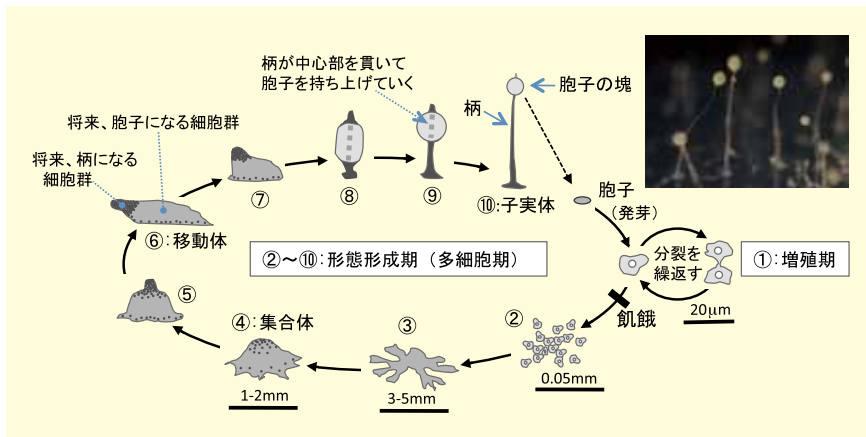


図1. *D. discoideum* の生活環（模式図）と子実体の写真

D. discoideum の生活環は、増殖期（単細胞期：図1①）と形態形成期（多細胞期：②～⑩）に大別される。

孢子から発芽した粘菌アメーバ（単細胞）は細菌を食べ増殖するが（研究室では、大腸菌 *E. coli* などエサにしている）、飢餓状態になると集合を開始する。通常、10～50万個程度の細胞がcAMPに対する走化性運動で集合して、多細胞体を形成する（②～④）。集合体は、先端部を伸ばし（⑤）、ナメクジ型の移動体（⑥）となって培地上をはいまわる。やがて、適当な場所に留まり（⑦）、先端部の細胞が中心部を突き抜けるようにして柄を形成しながら（⑧）孢子部位を持ち上げ（⑨）、最終的に1-2mm程の子実体（⑩）を形成する。

④～⑦の淡いグレーの部分の細胞（全体の約75%）は将来孢子になり、濃いグレー部分の細胞（全体の約25%）は将来柄細胞に分化する（図では、便宜上濃淡をつけた）。

註）一般に、cAMPは細胞内セカンドメッセンジャーとして機能していることが知られているが、粘菌の場合、細胞外のシグナル因子（走化性誘導因子かつ分化誘導因子）としても機能している。もちろん、細胞内においてもcAMPは生成されセカンドメッセンジャーとして重要な役割を果たしている。

細胞を作り、最終的に孢子塊と柄から成る子実体を形成する。

飢餓直後、ほぼ均質（未分化）であった細胞群が集合し、孢子と柄細胞に分化しながら子実体を完成するまでに要する時間は（温度や湿度などの条件にもよるが）、およそ24時間と短い。

このように、粘菌は、1）生活環が短く、分化系がシンプル、2）取り扱いや生育が簡単、かつ、3）半数体ゆえ遺伝子改変操作も容易なため、細胞分裂、細胞運動、細胞分化、形態形成

などのメカニズム解析の優れたモデル生物として世界中で利用されている。

3 粘菌の柄細胞分化誘導因子 DIF

1980年代後半、英国のKayの研究グループは、粘菌の柄細胞分化誘導因子 differentiation-inducing factor-1, -2, -3 (DIF-1, -2, -3) を単離、同定した（図2）^{2,3)}。

DIF-1, -2, -3は、塩素原子を含むアルキルフェノン（alkylphenone）で、

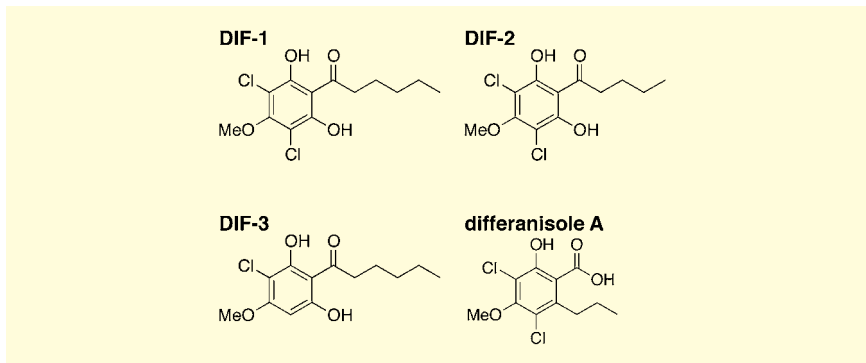


図2. DIF-1、DIF-2、DIF-3、および differanisole A の構造式

分化誘導活性は DIF-1 がもっとも強く、nM オーダーで顕著な分化誘導作用を示す。DIF-1 の作用機序の詳細は不明だが、DIF-1 は (少なくとも一部) 細胞内カルシウム濃度とプロトン濃度を上昇させることにより機能することが示唆されている⁴⁾。なお、DIF-1 の受容体は未だ同定されていない。

一方、DIF-2 は DIF-1 の 40% 程度、

DIF-3 は 4% 程度の分化誘導活性を有している^{5,6)}。後に、DIF-3 は DIF-1 の分解産物であることが判明したが、DIF-2 は DIF-1 の分解産物でもなく、DIF-1 生合成過程の中間体でもなかった^{6,7)}。そのため、DIF-2 には分化誘導以外の何か別の機能 (発生初期における機能) があるのではないかと推測されてきたが⁸⁾、その正体は長いあい

だ不明であった。

4 走化性運動の制御因子 DIF-1 と DIF-2

図1で概説したように、飢餓状態の粘菌細胞は cAMP に対する走化性運動 (と細胞接着) によって集合し、多細胞体を形成する (図1②~④)。この走化性運動のメカニズムは、およそ図3のように理解されている。

筆者らは、簡単なアッセイ系を利用して (図4)、粘菌走化性運動に対する DIF-1 と DIF-2 の効果を検討した。

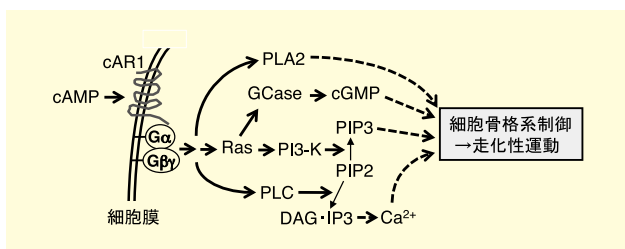


図3. 粘菌走化性運動のメカニズム (モデル)

走化性誘導因子である cAMP が細胞膜上の受容体 (cAMP receptor-1 : cAR1) に結合し、三量体 G タンパク質を介して Ras や PI3-K (PI3 kinase)、GCase (guanylyl cyclase)、PLC (phospholipase C)、PLA2 (phospholipase A2) など活性化する。それらの産物である PIP3 (phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate) や cGMP、Ca²⁺ などが細胞骨格タンパク質 (アクチンやミオシンなど) にシグナルを伝えることによって、細胞は cAMP 源 (濃度の高い方向) に向かって移動する。PIP2, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate ; DAG, diacylglycerol ; IP3, inositol 1,4,5-triphosphate.

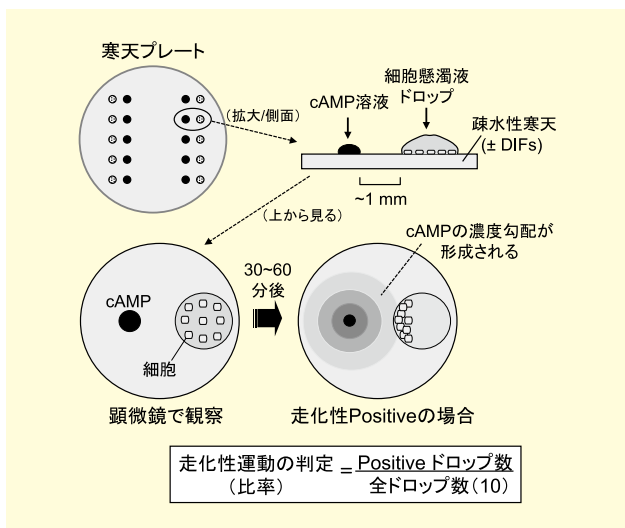


図4. 粘菌走化性運動のアッセイ系 (文献9より改変)

10組の cAMP 溶液と細胞懸濁液ドロップ (一滴) を 9cm の寒天プレート上に置く。30-60分ほどすると cAMP が拡散し濃度勾配を形成するため、細胞は走化性運動によってドロップの端に移動してくる (顕微鏡で簡単に判定可)。この判定法によって、ある条件下 (様々な濃度の cAMP や DIFs の存在下) における走化性運動が、全体 (10 ドロップス) の何パーセントのドロップ中で起こったのかを定量的に検定できる。

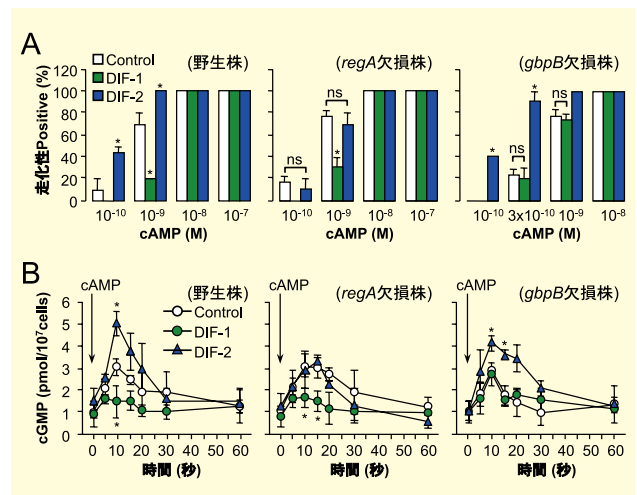


図5. 粘菌走化性運動と細胞内 cGMP レベルに対する DIFs の効果 (文献9より改変)

(A) 図4のアッセイ系を利用して、粘菌野生株の走化性運動に対する DIF-1 と DIF-2 (それぞれ 10 nM) の効果を調べた。比較的高濃度の cAMP (10⁸ ~ 10⁷ M) に対する走化性運動は、DIFs の存在に関係なく 100% のドロップ中で観察された。ところが、低濃度 cAMP (10⁻¹⁰ ~ 10⁻⁹ M) に対する走化性運動は、DIF-1 によって有意に抑制され、DIF-2 によって有意に促進された。

一方、*regA* (cAMP 分解酵素) 欠損株では、DIF-2 による走化性促進効果が破綻している (DIF-1 の効果は認められる)。逆に、*gbpB* (cGMP 分解酵素) 欠損株では、DIF-1 による走化性抑制効果が破綻している (DIF-2 の効果は認められる)。*P < 0.05, ns : 有意差なし (コントロール群と比較)。

(B) 粘菌野生株、*regA* 欠損株、*gbpB* 欠損株をそれぞれ三角フラスコウ中で振とう培養し、cAMP (最終濃度 : 0.3 nM) 刺激後の細胞内 cGMP 濃度変化を調べた。野生株においては、cAMP 刺激後、細胞内 cGMP レベルが一過性に上昇する。そして、DIF-1 存在下では cGMP 上昇が抑制され、DIF-2 存在下では cGMP レベルはコントロールよりも大きく上昇した。これとは対照的に、*regA* 欠損株においては、DIF-2 の効果が破綻し、*gbpB* 欠損株においては、DIF-1 の効果が破綻していた。*P < 0.05 (コントロール群と比較)。

註) 飢餓状態の粘菌細胞は cAMP を放出して周囲の細胞を刺激する。刺激された粘菌細胞は、自ら cAMP を生成、放出し、別の細胞を刺激する。通常発生過程においては、このような「cAMP リレー (relay)」によって、多数の粘菌細胞が集合をする。しかし、cAMP リレーは解析を複雑にするため、実験はすべてカフェイン (粘菌 cAMP 生成の阻害剤) 存在下で行われている。

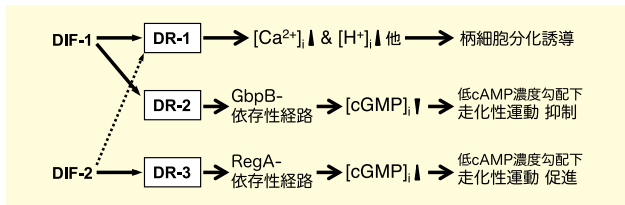


図6. DIFsによる粘菌細胞分化と走化性運動の制御モデル
筆者らの研究成果などから以下のことが示唆される。DIF-1は、DR-1 (DIF 受容体1) を介して、細胞内カルシウムとプロトン濃度を上昇させることなどによって柄細胞分化を誘導する。また、DIF-1は、DR-2 (DIF 受容体2) と GbpB 依存性経路を介して、cAMP shallow gradient 下での走化性運動を阻害する。DIF-2は、DR-3 (DIF 受容体3) と RegA 依存性経路を介して、cAMP shallow gradient 下での走化性運動を促進する。また、DIF-2は、DR-1 を介した柄細胞分化誘導能を有する。なお、DR-1 ~ DR-3 は同定されていない。

その結果、低濃度の cAMP に対する走化性運動を DIF-1 が抑制し、逆に DIF-2 が促進することを発見した (図 5 A)。つまり、DIF-1 と DIF-2 は分化誘導因子であると同時に、走化性運動の正・負の制御因子 (modulators) であることが明らかとなった⁹⁻¹¹⁾。

走化性運動に関与する各種遺伝子破壊株を用いた実験から、DIF-1 と DIF-2 による走化性制御には、それぞれ GbpB (cGMP 分解酵素) と RegA (cAMP 分解酵素) という二種類のホスホジエステラーゼ (PDE) が関与すること (図 5 A)、さらに、DIF-1 と DIF-2 は細胞内 cGMP レベルに影響

することによって、走化性運動を制御すること (図 5 B) が明らかとなった⁹⁾。また、DIF-1 と DIF-2 は、異なる3つの受容体を介して細胞分化と走化性運動を制御していることも示唆されている (図 6)¹²⁾。

5 DIFs の示す薬理活性

5-1. 抗腫瘍作用

DIF-1 発見の2年程前、理化学研究所の Asahi らは、マウス赤芽球性白

血病細胞に対する増殖抑制と分化誘導活性 (ヘモグロビン産生誘導能) を指標とした「抗腫瘍因子」のスクリーニングを行い、真菌の一種 *Chaetomium* (和名なし) の培養上清より differanisole A (DA: 図 2) を単離、同定していた¹³⁾。

Asahi と筆者らのグループは、DIF-1 と DA の類似性に着目し、DIF-1 (数 μM ~ 20 μM 程度) も DA と同様の抗腫瘍活性を有することを見出した (しかも、DIF-1 は DA よりも強い活性を有していた)¹⁴⁾。

DIFs の抗腫瘍活性を比較検討した結果、興味深いことに「DIF-3 > DIF-1 > DIF-2」の順に活性が高いことが明らかとなった (図 7)¹⁵⁾。その後、筆者らは、およそ 30 種類の DIF 誘導体を用いた「化学構造 - 活性相関」解析を進め、より強力な活性を有する DIF-3 誘導体を見出している¹⁶⁾。

DIFs の作用機序については、1) DIFs が細胞内カルシウム濃度を上昇させること^{15, 17)}、2) カルモジュリン依存性 cAMP/cGMP 分解酵素 (PDE1) を阻害すること¹⁸⁾、3) ERK や GSK3 β

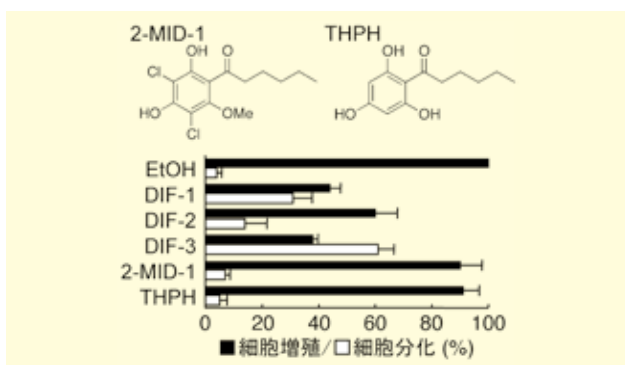


図7. K562 細胞の増殖と分化に対する DIFs の効果 (文献 15 より改変)

ヒト K562 白血病細胞を、EtOH (0.2% : vehicle) あるいは各種 DIF 様化合物 (20 μM) 存在下で3日間培養し、細胞数を比較した (■: グラフの数値は Control を 100 とした%)。また、K562 細胞を同一条件下で5日間培養し、ベンチジン染色法によって分化細胞 (ヘモグロビン産生細胞) の比率を調べた (□)。2-MID-1 (2-methoxy isomer of DIF-1) は DIF-1 の位置異性体。検討した化合物の中で、DIF-3 が最も強い増殖抑制活性と分化誘導活性を示した。

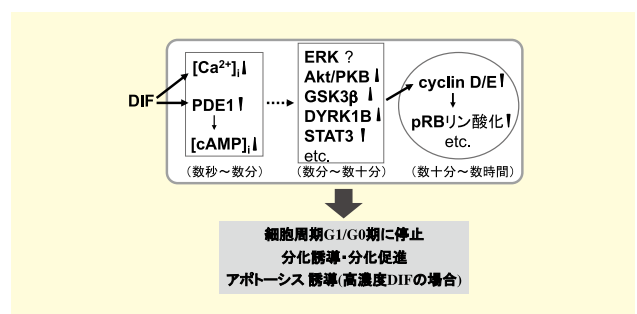


図8. DIFs による抗腫瘍作用のモデル

DIFs で細胞を刺激すると、数秒で細胞内カルシウム濃度が上昇し、数分で cAMP 濃度がわずかに上昇する。そして、数分から数十分のあいだに各種 protein kinases の活性が変化する (細胞種によって異なるシグナル変化もある)。さらに、数十分から数時間以内に Cyclin D や Cyclin E が減少することで、Rb protein が脱リン酸化され、細胞周期が G1/G0 期に停止する。結果として、細胞分裂は阻害され、細胞分化が誘導あるいは促進される (細胞種によって異なる)。高濃度の DIFs 存在下では、細胞はアポトーシスを起こす。PDE1, calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase; ERK, extracellular signal-regulated kinase; PKB, protein kinase B; GSK3 β , glycogen synthase kinase-3 beta; DYRK1B, dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1B; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; pRB, retinoblastoma protein.

など各種キナーゼ活性に影響すること^{19, 20)}、4) Cyclin DやCyclin Eの遺伝子発現とタンパク質レベルを抑制し、細胞周期をG1/0期に停止すること^{21, 22)}などが明らかとなっている(図8)。

5-2. 糖代謝促進作用

筆者らは、正常細胞に対するDIFsの毒性を検討する過程で、DIF-1(5~20 μ M)がモデル正常細胞(Confluent状態)の糖取込み(糖代謝)を促進することを発見した(図9)²³⁻²⁵⁾。このDIF-1の作用は、ラット胃粘膜RGM-1細胞、マウス3T3-L1細胞、および分化誘導した3T3-L1脂肪細胞において確認された。また、糖取込み促進活性は、「DIF-1 > DIF-2 > DIF-3」の順で高かった。

DIF-1の作用機序に関しては、DIF-1による糖取込み促進作用はPI-3

kinase/Akt系を介さないこと(すなわち、インスリンの作用機序とは異なること)や、DIF-1が細胞内GLUT1(glucose transporter 1)の細胞膜への移行を誘導すること等が明らかとなった(図10)。また、市販のPDE1阻害剤や細胞内カルシウム上昇剤が糖取込みを促進しなかったことから、「DIF-1 → PDE1阻害 → 糖取込み促進」あるいは「DIF-1 → カルシウム上昇 → 糖取込み促進」という機序ではなさそうに思われた²³⁾。

さらに、筆者らは、30種類のDIF誘導体を用いて「化学構造-活性相関」を検討し、DIFsの有する抗腫瘍活性と糖取込み促進活性はDIFの側鎖修飾によって分離できる可能性があること、すなわち、「DIFsによる糖取込み促進作用と抗腫瘍作用の機序は少なくとも一部異なること」などを示した²³⁾。

最近になって、DIF-1がミトコンド

リアのmalate dehydrogenase(mMDH)を阻害することが明らかになっており(DIF-3はmMDHを阻害しない)²⁶⁾、もしかすると「DIF-1 → mMDH阻害 → 糖取込み促進」という経路があるのかもしれない。

DIFsの作用機序は不明な点が多いが、筆者らは、DIF-1が肥満・糖尿病治療薬のリード化合物になるのではないかと期待している。

5-3. その他の作用

近年、筆者らは、mitogen刺激したJurkat細胞(ヒトT細胞のモデル)におけるinterleukin-2(IL-2)産生を指標に、各種DIF誘導体の効果を検討した。その結果、ある種のDIF誘導体がIL-2産生を阻害し、別のDIF誘導体がIL-2産生を促進することを見出した^{27, 28)}。

さらにこの他にも、各種DIF誘導体の示すいくつかの薬理作用が報告されており²⁹⁻³¹⁾、限られたスペースではとてもすべてを紹介できそうにないのだが、「DIFの魅力・価値」は今後益々上昇するものと思われる。

6 おわりに

細胞性粘菌の分化誘導因子かつ走化性運動制御因子であるDIFsが、なぜ抗腫瘍活性などの多彩な生物活性を有するのかは現時点ではわからない。しかし、現在未同定のDIF受容体(DIFsのターゲットタンパク質)を含めた

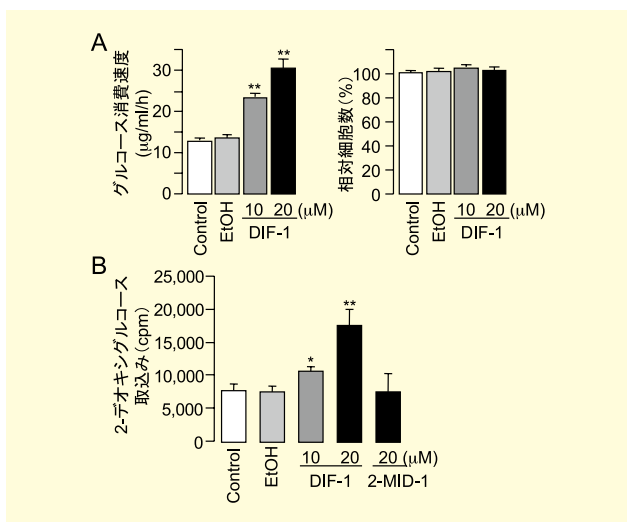


図9. 3T3-L1細胞の糖取込みに対するDIF-1の効果(文献23より改変)

(A) Confluent状態のマウス3T3-L1細胞をEtOH(0.2%: vehicle)あるいはDIF-1(10~20 μ M)存在下で18時間培養後、培地中のグルコース濃度を測定することによって、グルコース消費速度を計算した。また、細胞数検定用色素を用いて相対細胞数を測定した。DIF-1は濃度依存性にグルコース消費を促進したが、DIF-1による細胞毒性は認められず、細胞数にも変化はなかった。

(B) Confluent状態のマウス3T3-L1細胞をEtOH(0.2%)、DIF-1(10~20 μ M)、2-MID-1(20 μ M)存在下でそれぞれ4時間培養後、トリチウムラベルした2-デオキシグルコースの取込みを測定した。DIF-1は濃度依存性にグルコース取込みを促進したが、2-MID-1の効果は認められなかった。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ (コントロール群と比較)。

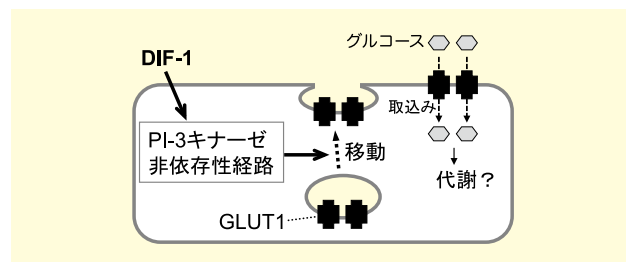


図10. DIF-1による糖取込み促進のモデル

DIF-1は、PI3 kinase/Akt非依存性経路を介してGLUT1(glucose transporter 1)を含む顆粒を細胞膜に移動させることにより、糖取込みを促進する。

DIF シグナル伝達機構の全貌が明らかになれば、何らかの答えが得られるかもしれない。

やや勇み足の感もあるが、「ひよっとすると我々は、様々な kinases や phosphatases、PDEs などの酵素活性(カギ穴)を制御する『マスターキー(=DIF)』を手に入れたのかもしれない」などと、淡い期待を抱いている(これはやや無謀か・・・)。

現在、筆者らは、粘菌における DIFs の生理活性と、哺乳類細胞における DIFs の薬理活性の両方を睨みながら、DIFs の作用機序の全容解明、とりわけ、DIF 受容体の探索を進めている。その一方で、DIFs をリード化合物とした抗がん剤、肥満・糖尿病治療薬、免疫制御剤、抗トリパノソーマ剤などの開発にチャレンジしているが、*in vivo* での DIFs の薬効および毒性の検討が今後の大きなハードルとなるだろう。

今回の安価な DIFs の販売開始によって、DIF 研究の裾野が広がることを願って止まない。

謝 辞

ここに紹介した一連の DIF 研究は、

東北大学大学院薬学研究科の大島吉輝先生、菊地晴久先生(各種 DIF 誘導体の化学合成)、筑波大学大学院環境生命科学研究科の桑山秀一先生(粘菌走化性運動の研究)をはじめとする多くの先生方との共同研究の賜物である。また、DIF 関連の特許申請の際には、群馬大学 TLO のスタッフにも大変お世話になった。ここに深謝したい。

【参考文献】

- 1) 菊地晴久: 薬学雑誌, **127**, 1431-1439 (2007).
- 2) Morris, H. R. *et al.*: *Nature*, **328**, 811-814 (1987).
- 3) Morris, H. R. *et al.*: *Biochem. J.*, **249**, 903-906 (1988).
- 4) Kubohara, Y. and Okamoto, K.: *FASEB J.*, **8**, 869-874 (1994).
- 5) Masento, M. S. *et al.*: *Biochem. J.*, **256**, 23-28 (1988).
- 6) Kay, R. R. *et al.*: *Development*, **107**, 81-90 (1989).
- 7) Kay, R. R. *et al.*: *Semin. Cell Dev. Biol.*, **10**, 577-585 (1999).
- 8) Wurster, B. and Kay, R. R.: *Dev. Biol.*, **140**, 189-195 (1990).
- 9) Kuwayama, H. and Kubohara, Y.: *PLoS ONE*, **4**, e6658 (2009).
- 10) 久保原禪、桑山秀一: 生化学, **82**, 1132-1137 (2011).
- 11) 久保原禪、岡島史和、小町麻由美、桑山秀一、大島吉輝、菊地晴久: 特願 2010-004319, 「走化性運動制御剤」.
- 12) Kuwayama, H. *et al.*: *Cell Struct. Func.*, **36**, 21-26 (2011).
- 13) Oka, H., *et al.*: *J. Antibiot.*, **38**, 1100-1102 (1985).
- 14) Asahi, K. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **208**, 1036-1039 (1995).
- 15) Kubohara, Y.: *Eur. J. Pharmacol.*, **381**, 57-62 (1999).
- 16) Gokan, N. *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **70**, 676-685 (2005).
- 17) Kubohara, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 418-422 (1997).
- 18) Shimizu, K. *et al.*: *Cancer Res.*, **64**, 2568-2571 (2004).
- 19) Kanai, M. *et al.*: *Oncogene*, **22**, 548-554 (2003).
- 20) Takahashi-Yanaga, F. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **278**, 9663-9670 (2003).
- 21) Miwa, Y. *et al.*: *Circ. Res.*, **86**, 68-75 (2000).
- 22) Akaishi, E. *et al.*: *Eur. J. Pharmacol.*, **485**, 21-29 (2004).
- 23) Omata, W. *et al.*: *FEBS J.*, **274**, 3392-3404 (2007).
- 24) 久保原禪、柴田宏: 特許第 4534039 号, 「糖代謝促進剤並びに肥満及び糖尿病治療薬のスクリーニング方法」.
- 25) Kubohara, Y. and Shibata, H.: US Patent No. 7,846,974 B2.
- 26) Matsuda, T. *et al.*: *J. Pharmacol. Sci.*, **112**, 320-326 (2010).
- 27) Takahashi, K. *et al.*: *Life Sci.*, **85**, 438-443 (2009).
- 28) 久保原禪、村上正巳、高橋克典、大島吉輝、菊地晴久: 特願 2009-112974, 「インターロイキン-2 産生抑制剤」.
- 29) 久保原禪、嶋田淳子: 特願 2010-163039, 「抗トリパノソーマ剤およびトリパノソーマ症治療薬」.
- 30) Myre, M. A. *et al.*: *Cell. Signal.*, **21**, 567-576 (2009).
- 31) Seya, K. *et al.*: *Brit. J. Pharmacol.*, **165**, 870-879 (2012).

Products



新たな創薬資源化合物

DIFs

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
NEW 046-32091	DIF-1	生化学用	100mg	11,000
NEW 042-32093			500mg	38,000
NEW 049-32101	DIF-2	生化学用	100mg	14,000
NEW 045-32103			500mg	42,000
NEW 046-32111	DIF-3	生化学用	25mg	14,000
NEW 042-32113			100mg	42,000

はじめに

DNA (deoxyribonucleic acid、デオキシリボ核酸) はほぼ全ての生物において遺伝情報を担い、転写産物である RNA (ribonucleic acid、リボ核酸) を介してタンパク質へ翻訳される。DNA は、デオキシリボースとリン酸基が重合した鎖に 4 種類の塩基 (アデニン、グアニン、シトシン、チミン) が結合した高分子であり、その塩基配列の組み合わせによって動物種の多様性や個体差、すなわち我々生命体の個性を規定する。一方で、細胞間の機能の違いは DNA の塩基配列のみでは説明できない。哺乳類は 1 個の受精卵から発生するため、一部の細胞を除き同一の DNA を持つが、細胞分化の過程で細胞種特異的な転写ネットワークを形成することで、例えばヒトでは約 300 種類と言われる細胞種を生み出す。

エピジェネティクス (epigenetics)

は、塩基配列によらない遺伝情報の発現制御機構であり、DNA のシトシンのメチル化及びヒストンの化学修飾に代表される。遺伝子のプロモーター領域に多く見受けられる CpG アイランドは、シトシンとグアニンが連続する配列が高頻度で出現する領域である。そのシトシンがメチル化されることによって転写が抑制されることが明らかになっている。CpG アイランドにおける DNA メチル化は、発生・分化過程で組織特異的なパターンを示す (tissue-specific differentially methylated region, T-DMR)。DNA に書き込まれた遺伝情報は親から子へ引き継がれるが、エピジェネティックな情報はリセットされる。例えば、哺乳類では発生の初期段階、受精直後では、迅速な DNA 脱メチル化が起き、親から引き継いだ精子や卵に書き込まれたヒストンや DNA の修飾状態が初期化される。最近、終末分化した体細胞に転写因子群を導入することで作製する人工多能性幹細胞が開発されたが、この体

細胞初期化過程でも、分化の際に獲得したエピジェネティック修飾が初期化を受ける。本稿では、現在進められているゲノムワイドな DNA メチル化解析について概説する。

メチル化 DNA 検出法

DNA のメチル化領域を同定する手法は、(i) 化学反応による非メチル化 DNA の変換、(ii) メチル化感受性制限酵素による DNA の切断性、(iii) 抗体をはじめとするメチル化 DNA 結合性タンパク質を用いた手法に大別される。各々の手法は網羅性や解像度、特異性で特徴をもつ¹⁾ (表 1)。

早津によって発見された非メチル化シトシンを特異的にウラシルへ変換するバイサルファイト変換法は最もよく用いられている手法である。一本鎖にした DNA を低 pH 下で重亜硫酸ナトリウム (sodium bisulfite) で処理することでシトシンにスルホン酸が付加される。加水分解による脱アミノ反応

表 1. DNA メチル化解析法¹⁾

メチル化判別法	配列決定法	原理	検出範囲	長所	短所	CpG 以外のメチル化の判定
バイサルファイト変換	サンガーシーケンシング	目的領域を PCR / サブクローニングを行った後、サンガーシーケンシングで変換を判定。	領域特異的	簡便で特別な機器は不要。一塩基レベルでメチル化の検出が可能。	プライマーの設計に制限がある。スループットが低い。	プライマーによる
バイサルファイト変換	パイロシーケンシング	ピオチン化プライマーで目的領域を PCR し、パイロシーケンシング法で変換を判定。	領域特異的	簡便で定量性が高い。一塩基レベルでメチル化の検出が可能。	ホモポリマー (同一の配列が連続して出現する) に弱い。	プライマーによる
バイサルファイト変換	全ゲノムシーケンシング	バイサルファイト変換された塩基配列を高性能シーケンサーで決定する。	ゲノムワイド	ゲノムワイド、かつ非 CpG 配列のメチル化が判定できる。	高価。レアに出現する (非)メチル化アレルの検出が難しい。	○
バイサルファイト変換	Infinium アッセイ	目的領域をプローブでキャプチャーし、変換を判定する。	ゲノムワイド	定量性が極めて高い。	プローブのある配列のみの情報である。	○
バイサルファイト変換	Methylation-specific PCR (MSP)	メチル化 (シトシン) または非メチル化 (ウラシル) に相補的なプライマーを用いた定量的 PCR を行う。	領域特異的	定量性が高い。メチル化 / 非メチル化アレルの比を算出することができる。	非メチル化シトシンなどのメチル化の場合、プライマーのパターンが多く、設計が難しい。	プライマーによる
バイサルファイト変換	MassARRAY	分子量の変化を質量分析器で検出。	領域特異的	安価でハイスループットである。	微量なメチル化の検出が難しい。	○
制限酵素	メチル化感受性制限酵素による消化	制限酵素の消化後、PCR で切断を判定する。	領域特異的	簡便で高感度。	シトシン近傍の塩基配列によって制限酵素を変える必要がある。	制限酵素による
バイサルファイト変換・制限酵素	COBRA	目的領域を PCR で増幅し、制限酵素で消化することで塩基の変換を判定。	領域特異的	微量なメチル化を検出しうる。	非 CpG シトシンを標的とした場合、プライマーの設計 (組み合わせ) が難しい。	制限酵素による
アフィニティ精製	メチル化シトシン親和性タンパク質による回収	回収された DNA 断片の塩基配列をマイクロアレイや高性能シーケンサーで同定する。	ゲノムワイド	簡便である。スループットが高い。	メチル化 / 非メチル化アレルの比を出すのが難しい。一塩基レベルの解析ができない。	○

によってウラシルのスルホン酸塩が形成される。そして、高pH下でスルホン酸は脱離を受け、ウラシルが生成される。メチル化シトシンはスルホン付加反応が極めて遅いため、見かけ上非メチル化シトシンのみがウラシルへの変換を受ける。その後、目的領域をPCRで増幅し、シーケンシングによって配列決定する手法やマイクロアレイを用いた検出（後述）によって、変換を受けた塩基が同定できる。例えば、メチル化されたシトシンを含むDNAと非メチル化シトシンが変換されたウラシルを特異的に認識するプライマーを用いたリアルタイムPCRによってメチル化レベルを定量できる（methylation-specific PCR, MSP）。さらに、バイサルファイト変換を行ったゲノムDNAの全配列を高性能シーケンサーで決定することでメチル化状態を一塩基レベルで判定できる（whole genome bisulfite sequencing）。一方で、バイサルファイト変換されたDNAが一本鎖であることから、二本鎖を鋳型とする高性能シーケンシングで塩基配列決定を行う場合はバイサルファイト変換前の二本鎖DNAにあらかじめメチル化オリゴのアダプターを付加させるなどの工夫が必要となる。また、5-ヒドロキシメチルシトシン（5hmC）を含めた他の修飾シトシンもメチル化シトシン同様にバイサルファイト変換を受けないことから、修飾の種類を見分けられないことも留意する必要がある。

部位特異的にDNAを切断する制限酵素の一部は、塩基の修飾状態によって切断性が変わる。例えば、多くのメチル化シトシンが存在するCpG部位を含む領域5'-CCGG-3'を切断する制限酵素*HpaII*は、メチル化シトシンを含むDNAは切断できない。一方で、同じ配列を切断する*MspI*は標的部位のメチル化の有無にかかわらず切断できることより、この二種類の制限酵素を用いたDNA切断パターンによって

DNAメチル化を判定する手法がある。切断されたDNAはサザンブロッティングやPCRによってメチル化状態が定量化できる。この手法は簡便であり、PCRと併用することで高感度な検出が可能であるが、CpG以外のシトシンのメチル化が評価できない欠点を持つ。

これらに加え、メチル化シトシンを含むDNA断片を直接回収する手法もある。抗メチル化シトシン抗体を用いた免疫沈降によって、メチル化シトシンを含むDNA断片を回収するMeDIP法（methylated DNA immunoprecipitation）はマイクロアレイや高性能シーケンシングと組み合わせることでゲノムワイドにメチル化DNA領域を検出できる。一方で、メチル化シトシンを含む領域の同定はできても一塩基レベルの解析は不可能である。また、多くの抗メチルシトシン抗体が一本鎖DNAのみを認識することより、アニーリングによって非メチル化DNAを回収してしまうことや、高性能シーケンシングへの応用へは免疫沈降前にアダプターを付加させる必要があるなどの制限がある。そして、特異性の高い抗体を選出するのが重要である。同様にメチル化DNAに親和性を示すメチル化DNA結合領域MBD（methylated DNA binding domain）でメチル化DNAを回収する試薬も市販されている。MBDは二本鎖DNAを認識するために高性能シーケンシングへの応用が容易で、非メチル化DNAと再アニーリングする心配も軽減されている。MeDIPやMBDによって回収されるのはメチル化DNAのみで5hmCを含む他の修飾シトシンを含むDNAは回収されない。一方で、濃縮を用いたメチル化DNAの回収法であるために非メチル化DNAとメチル化DNAの比率を決定するのが困難であり、シトシンの含有量が高い領域がより濃縮を受けやすいなどのバイアスも考慮される必要がある。

バイサルファイト変換法やメチル化感受性制限酵素、メチル化DNAに対する親和性を利用した回収法によってメチル化されていると判定されたDNA断片は様々な手法によって塩基配列の決定が行われる。例えば、CpGアイランドなどの限られた領域にプローブが設計されたマイクロアレイを用いることで、メチル化DNA断片を定量できる（CpGアイランドマイクロアレイ）。この他に、メチル化を観測したいDNA領域をプローブで捕捉し、観測したい塩基の修飾状態を蛍光検出するためのマイクロアレイが開発されている（Infiniumアッセイ、イルミナ社）。まず、目的DNAをバイサルファイト変換し、非メチル化シトシンをウラシルへ変換する。メチル化の標的とならない部位と相補鎖を形成するプローブでバイサルファイト変換されたDNA断片を捕捉する。鋳型DNAに存在するウラシルは操作過程の増幅反応によってチミンへ変換される。メチル化を判定したい塩基はプローブの3'末端の隣に配置されており、一塩基延長反応によって取り込まれる塩基がグアニン（相補鎖はシトシン）かアデニン（相補鎖はチミン）かで鋳型DNAのメチル化状態を判定する。現在、約45万のプローブを搭載したマイクロアレイが開発されており、多量のDNAメチル化を一塩基レベルで検出することが可能となっている。また、この手法は免疫沈降などの手法に比べ、高い定量性を示す。

脱メチル化解析

最近、DNA脱メチル化の中間体の候補としてメチルシトシン誘導体が相次いで報告されている^{2,3)}。まず、TET（ten-eleven translocation）ファミリータンパク質がメチルシトシンに水酸基を付加することで産生される5-ヒドロキシメチルシトシン（5hmC）が発見された。そして、5hmCが5-

表2. ゲノムワイドな5-ヒドロキシメチルシトシンの検出方法の例

分離・回収法	原理	長所	短所
クロマトグラフィ (HPLC, TLC) による分離	修飾塩基がもつ化学的な性質を利用して分離し、質量分析で修飾の種類を判定する。	種々の修飾を同時に検出できる。新規の修飾を同定できる。	スループットが低い。修飾を受けている DNA 領域が同定できない。TLC では種々の修飾塩基を分離する条件検討が煩雑。
抗 5hmC 抗体による免疫沈降	回収された 5hmC を含む DNA 断片の塩基配列を高性能シーケンサーで同定する。	簡便。高度にヒドロキシル化を受けている DNA 領域を同定できる。	5hmC の含有率で検出のバイアスがかかる。非修飾シトシン、メチルシトシンと 5hmC の比が決定できない。一塩基レベルではない。
バイサルファイト変換後の修飾塩基に対する抗体で免疫沈降	5hmC がバイサルファイト変換されたメチレンスルホネートに対する抗体で検出。	特異性が高い。	一塩基レベルではない。5hmC 以外に適用できない。
酵素によるピオチン化グルコースラベル	ストレプトアビジンによるグルコース修飾ピオチン化 DNA 断片を回収し、高性能シーケンサーで配列を決定する。	簡便で特異性が高い。高度にヒドロキシル化を受けている DNA 領域を同定できる。	一塩基レベルではない。
酵素によるピオチン化グルコースラベル	グルコースが付加した 5hmC が一分子リアルタイム (SMRT) シーケンシング反応を遅延させることを利用。	高解像度 (一塩基レベル)、高感度。	高価でスループットが高くない。

ホルミルシトシン (5fC) や 5-カルボキシルシトシン (5caC) へ変換されることが示された。これらの代謝産物が DNA グリコシダーゼによって除去される機構が能動的 DNA 脱メチル化のメカニズムとして提唱されているが、今後の検証が待たれている。また、酵素を介さないメチル基の除去は生理的な条件下では熱力学的にはほぼ不可能であるのに対し、水酸基が付加された 5-ヒドロキシメチル基の除去に必要なエネルギーが十分低くなっていることより、細胞内環境によっては自発的にヒドロキシメチル基が除去される可能性も否定できない。そして、5hmC が片側アレルのメチル化 CpG を鋳型に他方アレルの CpG にメチル基を導入する「維持」DNA メチルトランスフェラーゼ DNMT 1 によって認識されない官能基であることから、DNA 複製時におけるメチル基の娘鎖へのコピーが阻害されていることも考えられる。

メチルシトシンの誘導体は、抗体を用いた検出や濃縮、あるいは酵素反応で誘導体をラベリングすることで検出される⁴⁾。現在までに開発された手法を表 2 に示す。次々世代シーケンシングとされている SMRT (single-molecule, real-time) シーケンシング法は、5hmC とメチルシトシンを単一細胞レベルで見分けられる技術として注目されている⁵⁾。

おわりに

TET ファミリータンパク質の発見によって長い間議論が続いていた発生過程における DNA 脱メチル化のメカニズムを説明する証拠が得られつつある。このように、エピゲノム情報がヒトの発生・分化において時空間的な遺伝子発現制御に重要な役割を果たしていることが明らかになる一方で、DNA 部位特異的なエピゲノム制御の解明の重要性が増している。現在、サブテラ

ベースの配列決定できる高速シーケンサーやディープシーケンサーは次世代シーケンサーと呼ばれることがあるが、さらに高性能のシーケンサー、いわゆる次々世代シーケンサーが登場し、これまではシーケンサーのスペックで制限されてきたエピゲノム解析が高速で展開していくことが予想される。今後、生化学的手法による中間体の詳細な解析とシーケンシング技術をはじめとする遺伝子工学的手法の両方からのアプローチによって DNA (脱)メチル化の意義がより明確になるとと思われる。

【参考文献】

- 1) 牛島・眞貝編:「エピジェネティクス実験プロトコル」(2008)。
- 2) Branco, M. R., Ficz, G. and Reil, W.: *Nat. Rev. Genet.*, **13**, 7-13 (2012)。
- 3) Saitou, M., Kagiwada, S. and Kurimoto, K.: *Development*, **139**, 15-31 (2012)。
- 4) Wu, H. and Zhang, Y.: *Genes Dev.*, **25**, 2436-2452 (2011)。
- 5) Song, C. X., Clark, T. A., Lu, X. Y., Kislyuk, A., Dai, Q., Turner, S. W., He, C. and Korch, J.: *Nat. Methods*, **9**, 75-77 (2012)。

DNA バィサルファイト変換関連試薬



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-71901	EpiSight Bisulfite Conversion Kit	遺伝子研究用	20 回用	25,000
297-72001	EpiSight BisulTaq DNA Polymerase, recombinant, Solution	遺伝子研究用	100units	20,000
319-07041	Hot-Start Gene Taq	ニッポンジーン	250units	26,500
318-02871	Gene Taq	ニッポンジーン	250units	22,500
318-03231	Gene Taq NT	ニッポンジーン	250units	22,500
013-23931	50% Ammonium Hydrogensulfite Solution	分子生物学用	100g	8,000
017-23951	Ammonium Sulfite Monohydrate	分子生物学用	100g	7,800
190-16461	Sodium Hydrogensulfite	分子生物学用	100g	9,500

生体内におけるゲノムDNAのメチル化は遺伝子発現の制御に関わり、メチル化のパターンの差異が、発生、分化、がんなどの疾患に関係することが報告されています。ゲノムDNAのメチル化解析は病気の原因解明や予防、医薬品の開発、再生医療の研究などにおいて重要な役割を持っています。

現在、DNA塩基配列中のメチル化シトシンを測定する方法としてはBisulfite法が一般的な方法として普及しています。

従来のBisulfite法はPCR増幅する遺伝子領域によっては非メチル化シトシンからウラシルへの変換率が高くないため、メチル化シトシンの検出精度が低いなどの問題を有していました。そのため、遺伝子配列の影響を低減した非メチル化シトシンのウラシルへの変換効率が高いBisulfite法の開発が望まれていました。

EpiSight Bisulfite Conversion Kitは、EnhancerをBisulfite反応時に添加することにより、従来のBisulfite法ではゲノムDNAの分解が激しくて条

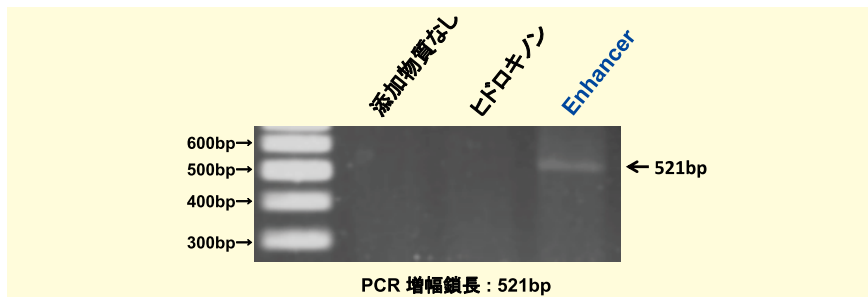


図1. Enhancerの効果

件設定できなかった95℃の高温反応でもゲノムDNAの分解を抑制しています。また高温反応により遺伝子配列の立体構造の影響を受けず、一本鎖DNAの状態を維持しているため、遺伝子の塩基配列に影響されず、非メチル化シトシンのウラシルへの変換率を向上させています。

今回、マウスM1細胞（白血病由来細胞）ゲノムDNAを鋳型として*EpiSight* Bisulfite Conversion Kitにより95℃、2時間のBisulfite反応後、幹細胞未分化マーカーである*Fgf4*プロモーター領域のPCR増幅を試みました。PCR増幅鎖長は521bp、CpGジス

クレオチド数は61箇所というBisulfite PCRとしては長い増幅鎖長であり、GC含量も高いことから鋳型DNAの立体構造の影響も大きいと予想される領域を選択しました。

図1にEnhancerの添加によるゲノムDNAの分解抑制作用を示しています。フリーラジカルスカベンジャーとしてDNA分解抑制作用があるとされるヒドロキノン及び添加物質なしでは目的の鎖長に増幅バンドは確認できませんでしたが、Enhancerを添加することにより目的の鎖長にPCR増幅産物が確認できました。この増幅産物の塩基配列を解読した結果、CpGジス

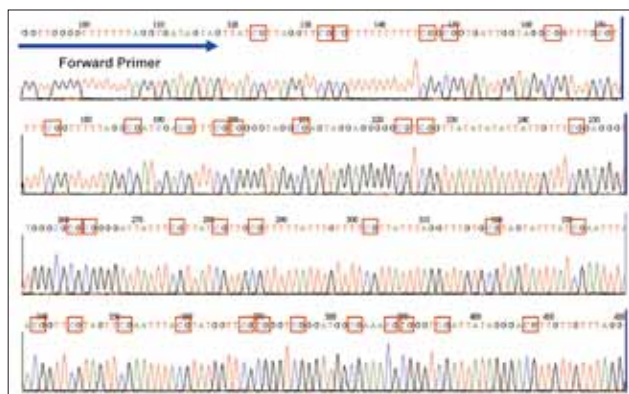


図2. *Fgf4* プロモーター領域 (M1) 塩基配列解読結果 (一部)

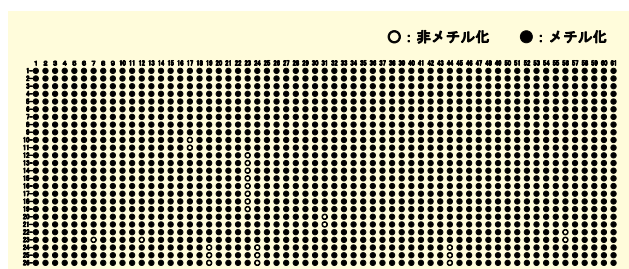


図3. *Fgf4* プロモーター領域CpGジヌクレオチド解析

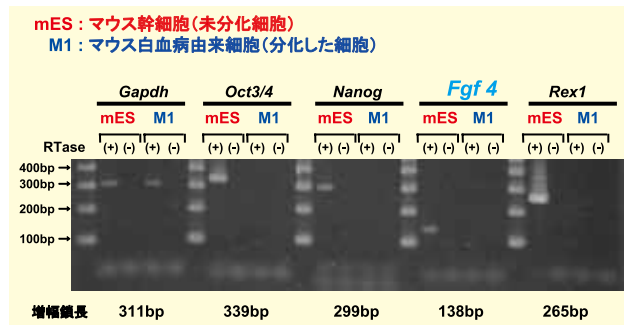


図4. 幹細胞未分化マーカーのmRNA発現量解析 (RT-PCR)

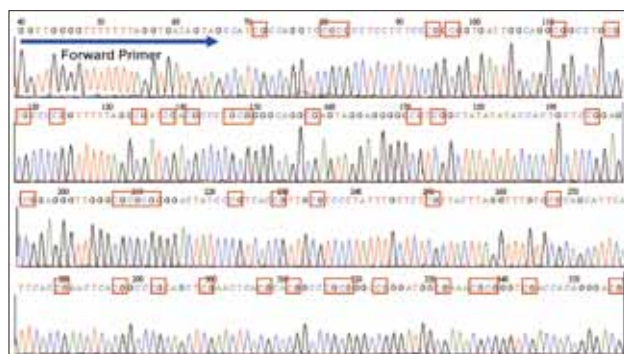


図5. 55℃ 16時間反応による塩基配列解読結果 (一部)

クレオチド以外のシトシンはウラシル(チミン)に変換されており、CpGジヌクレオチドのシトシンは変換されていませんでした(図2及び3)。M1細胞は分化した体細胞であり幹細胞未分化マーカーである*Fgf4*のmRNAは発現しておらず(図4)、プロモーター領域はメチル化されていると考えられ、今回の結果は*Fgf4* mRNAの発現量を反映しています。また今回検討

した*Fgf4*プロモーター領域を、従来法(55℃、16時間反応)でBisulfite変換を行った結果(図5)、CpGジヌクレオチド以外のシトシンがウラシルに変換されず、強固な立体構造の影響により、未変換のシトシンが多く残ったと考えられます。

EpiSight Bisulfite Conversion KitはEnhancerのDNA分解抑制効果により、高温短時間のBisulfite変換反

応、及び非メチル化シトシンのウラシルへの変換効率の向上を実現しており、今まで解析が困難であった鋳型DNAの正確なメチル化解析が可能です。今までBisulfite変換反応後にPCR増幅産物が得られなかった場合や、過去のデータの整合性を確認したい場合に、ぜひご検討下さい。

DNAメチル化解析の新定番!



EpiSight バイサルファイトコンバージョンキット *EpiSight* BisulTaq DNA ポリメラーゼ

本キットは、独自開発の Bisulfite 溶液及び反応エンハンサーの添加により、鋳型ゲノム DNA の分解を抑制し、かつシトシンからウラシルへの変換効率を大幅に向上させた Bisulfite 反応キットです。操作手順が簡便であり、短時間で反応が終了します。

また、専用の *EpiSight* BisulTaq DNA Polymerase との併用により、バイサルファイト反応後に PCR 増幅が困難な DNA 配列においても、高効率に増幅可能です。



キット構成

■ *EpiSight* Bisulfite Conversion Kit

- Bisulfite Solution 1.8ml × 1本
- Enhancer 120 μl × 1本
- Dilution Buffer 8.0ml × 1本
- Precipitation Carrier Solution 20 μl × 1本
- Neutralization Buffer 20 μl × 1本
- DNA Cleaner 500 μl × 1本

■ *EpiSight* BisulTaq DNA Polymerase

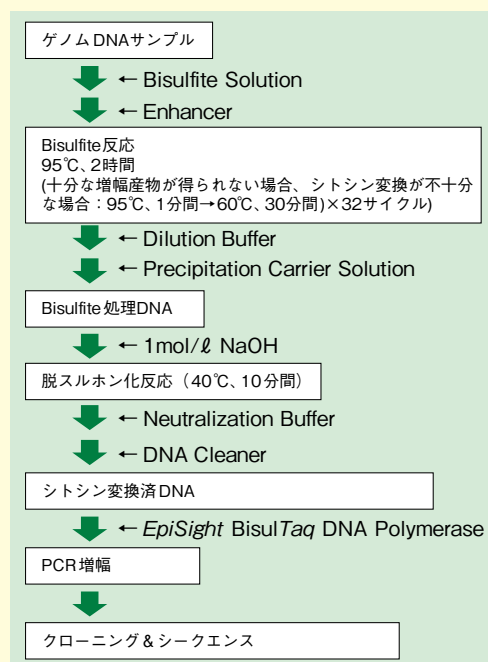
- *EpiSight* BisulTaq DNA Polymerase 100 units × 1本
- 5 × Reaction Buffer 1.5 ml × 1本

EpiSight と従来法との比較

Bisulfite 変換法	<i>EpiSight</i>	従来法
Bisulfite 反応時間	2時間	12時間以上
Bisulfite 反応温度	95℃	55 ~ 60℃
鋳型 DNA 分解反応	Low	High
Bisulfite 反応後 PCR 増幅効率	High	Low
シトシン変換効率 (300bp DNA 断片)*1	99.90%	~ 60%

*1: 鋳型 DNA 配列によって Bisulfite 変換効率は変わります。

フローチャート



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-71901	<i>EpiSight</i> Bisulfite Conversion Kit	遺伝子研究用	20回用	25,000
297-72001	<i>EpiSight</i> BisulTaq DNA Polymerase, recombinant, Solution	遺伝子研究用	100units	20,000

当社ホームページにも使用データを掲載しておりますのでご参照下さい。
<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/EpiSight/index.htm>

Presep® (Luer Lock) Silica Gel(HC-N)の開発

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 久保田 守

近年、化学合成品や天然物質における分取精製技術は、高性能なパックドカラムが搭載された自動分取精製システムの登場により大きな進化を遂げました。特にカラムの調製から分離工程までの作業コストが大幅に削減され、創薬、農薬、化学品分野での開発スピードアップに貢献しています。

プレセップ® (ルアーロック) シリカゲル (HC-N) シリーズは、フラッシュクロマト用の球状シリカゲルを充てんしたディスポーザブルタイプのカラムで、シリカゲルの比表面積を上げるにより高い分離能を示すことが特長です。HC-Nは従来のシリカゲルカラムと比べて、1回の精製操作で試料の最大負荷量を2~3倍まで上げることが可能で、作業時間のさらなる短縮化の達成や使用する溶媒の削減とカラム廃棄量の低減など、環境にもやさしい製品設計を目指しました。以下に製品仕様、カラム性能についてご紹介



図1. 製品の外観写真

表1. シリカゲルの物性

	Presep® Silica Gel (HC-N)	Presep® Silica Gel (SP)
シリカゲル 粒子径 細孔径 細孔容量 比表面積 pH	球状シリカゲル 35~63 μm 3nm 0.6mℓ/g 780m ² /g 6.5~7.5	球状シリカゲル 40~64 μm 6nm 0.7mℓ/g 475m ² /g 6.5~7.5
クロマトグラム (Lタイプ) Eluent : n-Hexane/AcOEt=90/10 Flow rate : 20mℓ/min. Detection : UV254nm Sample : 1) Toluene (0.1g) 2) DBP ^a (0.1g) 3) DEP ^b (0.1g) in 1mℓ Eluent Sample load : 1.0mℓ		

^aDibutyl phthalate, ^bDiethyl phthalate

します。

(1)プレセップ® (ルアーロック) シリカゲル (HC-N) の特長

- ・高い分離能
- ・試料負荷量が高く、精製スピードがアップ

・カラムコストの削減

・溶媒消費量の削減

カラムの外観写真を図1に示しました。

(2)シリカゲルの物性

シリカゲルの物性を表1に示しました。HC-Nカラムに充てんされている

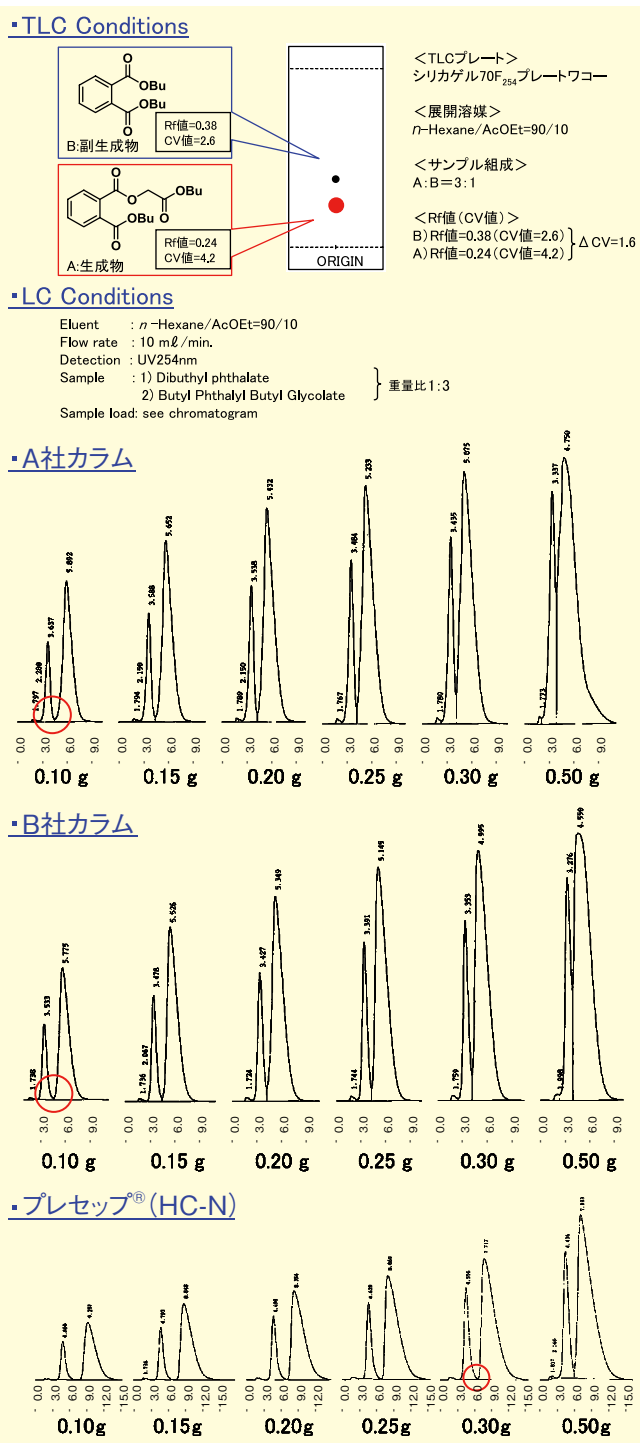


図2. 試料の負荷量とクロマトグラム

シリカゲルは当社の従来品及び市販品に比べて比表面積が1.5～2倍あることから成分の保持量が大きく、高い分離能を発揮します。シリカゲルのpH値は中性で、酸に弱い化合物への適用範囲が広がります。

(3) 試料の負荷量

HC-Nカラムと市販のA社、B社カラムを用いて試料の負荷量を比較した結果を図2に示しました。HC-Nカラムでは他社製品の2～3倍まで負荷量を上げることが可能でした。

(4) TLCのRf値とカラムボリューム

HC-Nカラムでの推奨流速、カラムボリューム、 ΔCV と各サイズでの試料の負荷量の目安を表2に示しました。カラムボリュームはバックドカラム1本の内部を溶離液で満たした時に必要とする液量 (ml) を表します。 ΔCV は、TLCで分離した2成分のRf値の逆数で差を求めた値で (図2参照)、この ΔCV が大きいほど分離度が高くなり、負荷量を上げることができます。また、 $1/Rf$ 値=CV値と表し、この関係はTLCの展開条件をフラッシュクロマトグラフィーへ移行させる時の参考指標になります。 $1/Rf$ 値=5 (CV値) となった場合、カラムボリュームの5倍量の溶離液で目的成分が溶出します。

(5) TLCプレートとHC-Nカラムの相関データ

当社シリカゲル70F₂₅₄プレートワ

表2. カラムサイズと試料の負荷量

シリンジ	サイズ (mm×cm)	推奨流速 (ml/min.)	充てん量 (g)	カラムボリューム (ml)	試料の負荷量目安 (g)		
					$\Delta CV=1$ (困難)	$\Delta CV=2$ (普通)	$\Delta CV=6$ (容易)
M	20×6	10～20	13	15	0.1	0.3	0.6
L	27×10	20～40	35	40	0.3	0.8	1.6
2L	27×14	20～40	50	60	0.4	1.2	2.4
3L	46×11	40～80	115	145	1.0	3.0	6.0
4L	46×22	40～80	230	290	2.0	6.0	12.0

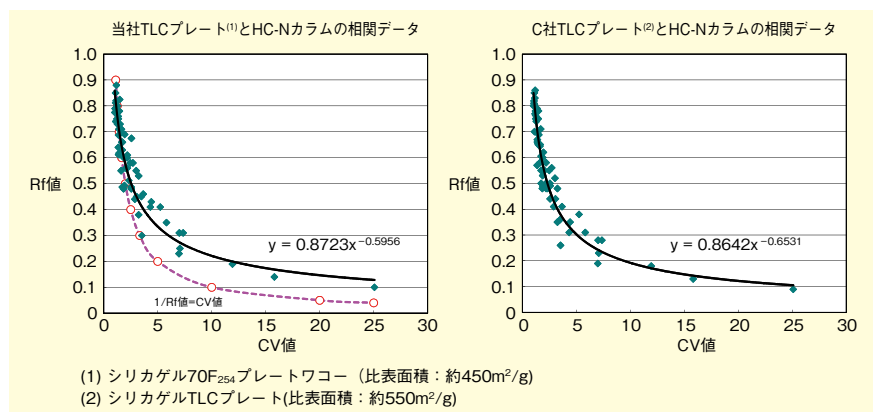


図3. TLCプレートとHC-Nカラムの相関データ

コー及び市販のC社TLCプレートで得られたRf値とHC-Nカラムとの相関データを図3に示しました。HC-Nカラムに充てんされているシリカゲルは当社のTLCプレートや他社製品に対して比表面積が大きいことから、実際のCV値は $1/Rf$ 値 (図3の点線) より値が大きくなります。既存のTLCプレートを用いる際には図3のグラフを活用いただくことでHC-Nカラムへ容易に移行できます。例えば、当社TLCでRf値=0.2となった場合、グラフよりCV値≒12となり、カラム

12本分の溶離液で溶出することが分かります。なお、Rf値が小さいほどカラムでの分離は良くなりますが、溶出時間も長くなるため、目的成分のRf値=0.25～0.40になるような溶出条件を推奨します。

高分離と環境に配慮した新しいプレセップ[®] (ルアーロック) シリカゲル (HC-N) は、精製コストの削減と開発スピードアップに貢献できるものと考えております。HC-Nカラムをぜひご活用下さい。

プレセップ[®] (ルアーロック) シリカゲル (HC-N)



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
291-34041	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取クロマトグラフ用	20本	35,000
297-34043	Type M (13g/25ml)		100本	照会
295-34061	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取クロマトグラフ用	20本	45,000
291-34063	Type L (35g/70ml)		100本	照会
292-34071	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取クロマトグラフ用	20本	60,000
298-34073	Type 2L (50g/100ml)		100本	照会
294-34031	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取クロマトグラフ用	5本	28,000
290-34033	Type 3L (115g/200ml)		30本	照会
299-34081	Presep [®] (Luer Lock) Silica Gel (HC-N)	分取クロマトグラフ用	5本	38,000
295-34083	Type 4L (230g/400ml)		30本	照会

認証標準物質



TraceSure®

TraceSure® シリーズは、(独) 製品評価技術基盤機構認定センター (IAJapan:NITE 認定センター) が運営する ASNITE (製品評価技術基盤機構認定制度) 認定プログラムによって、標準物質生産者の認定を取得した認証標準物質のシリーズです。

ASNITE 認定品目である認証標準物質には、製品毎に信頼性の証である不確かさを付与した認証書を添付しています。この認証書に記載された認証値は、APLAC (アジア太平洋試験所認定協力機構) の MRA (相互承認) を通じて、国際的に受入可能です。



TraceSure® 認証書

TraceSure® シリーズ (ASNITE 認定取得認証標準物質) ラインアップ

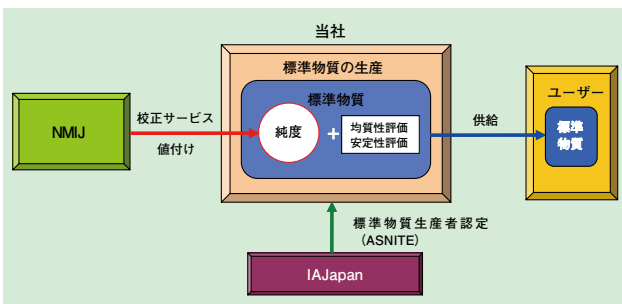
- 農薬標準物質
- 定量 NMR 用標準物質
- 容量分析用標準物質

* TraceSure® シリーズは順次追加しています。

農薬標準物質、定量 NMR 用標準物質

当社の供給する農薬標準物質・定量 NMR 用標準物質は、(独) 産業技術総合研究所計量標準総合センター (NMIJ) が国際単位系 (SI) にトレーサブルな測定方法で値付けした純度 (不確かさを含む) に、当社で均質性評価及び安定性評価などから得た不確かさを加えて標準物質の特性値を決定し、証明書付きの標準物質として供給しています。そのため、本標準物質の特性値は、NMIJ の分析値を通して SI にトレーサブルであり、計量トレーサビリティが表明できるものです。

農薬標準物質、定量 NMR 用標準物質の供給体系図 (概略)



農薬標準物質

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 013-23671	Anilofos Reference Material	TraceSure®	100mg	17,000
NEW 016-23661	Asulam Reference Material	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 019-23651	Atrazine Reference Material	TraceSure®	100mg	8,500
NEW 024-17271	Bensulfuron-methyl Reference Material	TraceSure®	100mg	25,000
近目発売 021-17301	Bensulfuron-methyl Reference Material	TraceSure®	100mg	11,000
NEW 023-17241	Benthiocarb Reference Material	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 028-17291	Bethrodine Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000
近目発売 027-17261	Bifenox Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000
NEW 020-17251	BPMC Reference Material (Fenobucarb)	TraceSure®	100mg	7,000
NEW 037-22071	Chlorfluazuron Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000
NEW 036-22041	Chloroneb Reference Material	TraceSure®	100mg	15,000
NEW 030-22061	Coumaphos Reference Material	TraceSure®	100mg	18,000
NEW 033-22051	Cumyluron Reference Material	TraceSure®	100mg	25,000
NEW 034-22081	Cyprodinil Reference Material	TraceSure®	100mg	20,000
NEW 049-31861	DCMU Reference Material (Diuron)	TraceSure®	100mg	7,000
NEW 041-31681	DEP Reference Material (Trichlorfon)	TraceSure®	100mg	12,000
NEW 040-31891	Diazinon Reference Material	TraceSure®	100mg	8,000
近目発売 043-31901	Diffubenzuron Reference Material	TraceSure®	100mg	14,000
NEW 043-31881	Dimepiperate Reference Material	TraceSure®	100mg	20,000
近目発売 046-31871	Diithiopyr Reference Material	TraceSure®	100mg	15,000
NEW 057-08251	Echloomezol Reference Material	TraceSure®	100mg	12,000
NEW 050-08241	EPN Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 053-08231	Etofenprox Reference Material	TraceSure®	100mg	5,000
NEW 066-05841	Famoxadone Reference Material	TraceSure®	100mg	20,000
NEW 069-05831	Flazasulfuron Reference Material	TraceSure®	100mg	9,000
NEW 062-05821	Flufenoxuron Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 065-05811	Flutolanil Reference Material	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 092-06321	Imazosulfuron Reference Material	TraceSure®	100mg	12,000
NEW 095-06291	Iprodione Reference Material	TraceSure®	100mg	8,000
近目発売 095-06311	Isoxathion Reference Material	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 133-16891	Malathion Reference Material	TraceSure®	100mg	11,000
NEW 135-16971	MCP Reference Material (MCPA)	TraceSure®	100mg	12,000
NEW 136-16901	MCPP Reference Material (Mecoprop)	TraceSure®	100mg	15,000
NEW 130-16921	Mefenacet Reference Material	TraceSure®	100mg	12,000
近目発売 133-16911	MEP Reference Material (Fenitrothion)	TraceSure®	100mg	8,000
NEW 134-16941	Mepronil Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000
NEW 137-16931	Metalaxyl Reference Material	TraceSure®	100mg	9,000
NEW 131-16951	Molinate Reference Material	TraceSure®	100mg	15,000
NEW 138-16961	Myclobutanil Reference Material	TraceSure®	100mg	16,000
NEW 144-09031	NAC Reference Material (Carbaryl)	TraceSure®	100mg	8,000
NEW 163-25101	2,4-PA Reference Material (2,4-D)	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 166-25071	Pendimethalin Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 165-25161	cis-Permethrin Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000
近目発売 162-25171	trans-Permethrin Reference Material	TraceSure®	100mg	25,000
NEW 163-25081	Probenazole Reference Material	TraceSure®	100mg	20,000
NEW 164-25131	Prochloraz Reference Material	TraceSure®	100mg	15,000
NEW 162-25051	Procymidone Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 169-25061	Propyzamide Reference Material	TraceSure®	100mg	12,000
NEW 160-25111	Pyributicarb Reference Material	TraceSure®	100mg	9,500
NEW 160-25091	Pyridaphenthion Reference Material	TraceSure®	100mg	6,000
NEW 198-16261	Silaflofen Reference Material	TraceSure®	100mg	14,000
NEW 191-16251	Simetryn Reference Material	TraceSure®	100mg	7,000
NEW 202-18751	Teflubenzuron Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 204-18711	Thiophanate Reference Material	TraceSure®	100mg	20,000
近目発売 204-18691	Thiuram Reference Material	TraceSure®	100mg	5,000
近目発売 205-18741	Tiadinil Reference Material	TraceSure®	100mg	25,000
NEW 201-18721	Triadimefon Reference Material	TraceSure®	100mg	13,000
NEW 208-18731	Trifloxystrobin Reference Material	TraceSure®	100mg	22,000
NEW 220-01941	Vinclozolin Reference Material	TraceSure®	100mg	14,000
NEW 236-02441	Warfarin Reference Material	TraceSure®	100mg	10,000

定量 NMR 用標準物質

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
024-17031	1,4-BTMSB-d ₄ Reference Material	TraceSure®	50mg	30,000
044-31671	DSS-d ₆ Reference Material	TraceSure®	50mg	30,000

[次頁に続く]

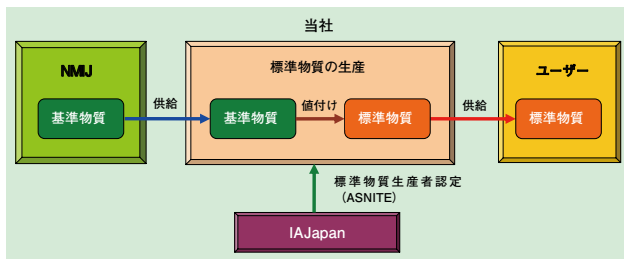
■ 容量分析用標準物質

容量分析用標準物質は、これまで（独）製品評価技術基盤機構（NITE）が純度の値付けを行っていましたが、国際的に整合性の取れた標準物質を供給する流れを受け、2010年3月末をもってNITEによる容量分析用標準物質の検査（値付け）業務が終了しました。

当社では容量分析用標準物質についてASNITE標準物質生産者認定を取得し、認証標準物質の供給を開始しました。これまでと同様、安心してお使いいただけます。

*当社が供給する容量分析用標準物質は、JIS K 8005に適合しています。

容量分析用標準物質の供給体系図（概略）



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
015-23371	Amidosulfuric Acid	TraceSure®	50g	9,200
161-24661	Potassium Hydrogen Phthalate	TraceSure®	50g	10,500
190-16221	Sodium Carbonate	TraceSure®	50g	4,200
192-15941	Sodium Oxalate	TraceSure®	50g	11,500

1mℓ、1本包装追加 水質分析関連試薬 Wako

農薬混合標準液

ホルムアルデヒド標準液

ご好評いただいております、農薬混合標準液と水質試験用ホルムアルデヒド標準液に1mℓアンプル包装を追加しました。1本より購入いただけ、使用期限内にご使用いただきやすくなりました。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
165-23123	68種農薬混合標準液 水質-1 (各20μg/mlアセトン溶液)	残留農薬試験用	1mℓ	19,000
169-23121			1mℓ×5	59,000
169-23883	15種農薬混合標準液 水質-2 (各20μg/mlアセトン溶液)	残留農薬試験用	1mℓ	10,000
163-23881			1mℓ×5	30,000
166-23893	28種農薬混合標準液 水質-3 (各20μg/mlアセトニトリル溶液)	残留農薬試験用	1mℓ	11,000
160-23891			1mℓ×5	35,000
069-04513	ホルムアルデヒド標準液 (1mg/mlメタノール溶液)	水質試験用	1mℓ	3,000
063-04511			1mℓ×5	6,000

各種農薬混合標準液の成分一覧、分析例に関します詳細は下記URLにてご確認いただけます。

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/pdf/GCMSLCSMS.pdf>

カビ臭標準品



ジェオスミン

2-メチルイソボルネオール

河川や湖において環境汚染により発生するカビ臭は、異常増殖した種々の放線菌や藻類の代謝により生成します。特に、ジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール(2-MIB)は極めて微量で強い土臭(またはカビ臭)を示すことから、水道水における異臭の最大原因物質と考えられています。

平成24年2月28日に公布された「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の一部を改正する件(平成24年厚生労働省告示第66号)」により、ジェオスミン及び2-MIBの検査方法に内部標準法が追加されました。

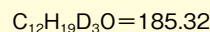
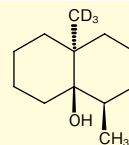
このたび、通達に記載されている内部標準物質であるジェオスミン-d₃、2,4,6-トリクロロアニソール-d₃を発売しました。

■ 標準品・標準液

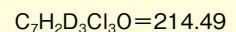
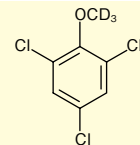
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
077-01911	Geosmin Standard	水質試験用	20mg	28,000
072-03421	Geosmin Standard Solution (0.1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1mℓ	8,500
132-07071	2-Methylisoborneol Standard	水質試験用	20mg	30,000
134-10581	2-Methylisoborneol Standard Solution (0.1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1mℓ	8,000
131-12431	2-Methylisoborneol-Geosmin Mixture Standard Solution (各0.1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1mℓ	12,000

■ 内部標準

■ (±)-ジェオスミン-d₃



■ 2,4,6-トリクロロアニソール-d₃



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
074-05681	(±)-Geosmin-d ₃ Standard	水質試験用	10mg	80,000
072-06081	(±)-Geosmin-d ₃ Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1mℓ	25,000
206-18911	2,4,6-Trichloroanisole-d ₃ Standard	水質試験用	50mg	30,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
209-18901	2,4,6-Trichloroanisole Standard	水質試験用	100mg	9,000
138-12061	2-Methylisoborneol-d ₃ Standard Solution (1mg/ml Methanol Solution)	水質試験用	1mℓ	38,000
192-10745	Sodium Chloride	水質試験用	500g	6,300
195-11092	Sodium Azide	試薬特級	25g	1,700
292-32251	Presep®-C C18(ODS)	試料前処理用	10個×5	29,000

品目追加



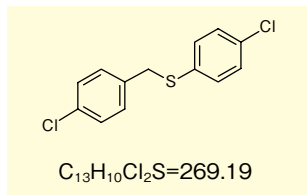
ポジティブリスト関連標準品

ポジティブリスト関連の残留農薬試験用標準品及び HPLC 用動物用医薬品標準品の追加品目をご紹介します。品目は順次追加しております。

農薬標準品

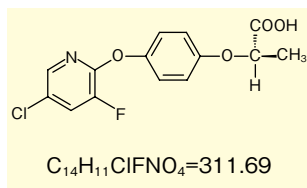
クロルベンシド標準品

化学名: *p*-Chlorobenzyl *p*-Chlorophenyl Sulfide
CAS No.: 103-17-3
含量 (cGC): 98.0% 以上
外観: 白色、結晶性粉末～粉末または塊
溶解性: アセトン、ベンゼン、トルエン、キシレンに可溶
備考: ダニ駆除剤



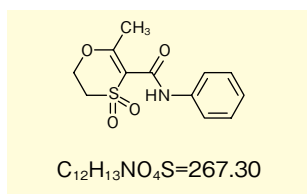
クロジナホップ酸標準品

化学名: (*R*)-2-[4-(5-Chloro-3-fluoropyridin-2-yloxy)phenoxy]propionic Acid
CAS No.: 114420-56-3
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外観: 白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末または塊
備考: 除草剤



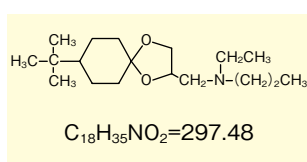
オキシカルボキシン標準品

化学名: 5,6-Dihydro-2-methyl-1,4-oxathiazine-3-carboxanilide 4,4-Dioxide
別名: Plantvax
CAS No.: 5259-88-1
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 1.4g/ℓ (25℃)。アセトン 83.7g/ℓ、ヘキサン 8.8mg/ℓ (25℃)
備考: 殺菌剤



スピロキサミン標準品 (異性体混合物)

化学名: 8-*t*-Butyl-1,4-dioxaspiro[4.5]decan-2-ylmethyl (ethyl) (propyl) amine
別名: Impulse
CAS No.: 118134-30-8
含量 (cGC) (異性体混合): 97.0% 以上
外観: ごくうすい黄色～うすい褐色、澄明の液体
溶解性: 水 > 200g/ℓ (pH 3, 20℃)。*n*-ヘキサン、トルエン、ジクロロメタン、イソプロパノール、*n*-オクタノール、ポリエチレングリコール、アセトン、ジメチルホルムアミド > 200g/ℓ (20℃)
備考: 殺菌剤

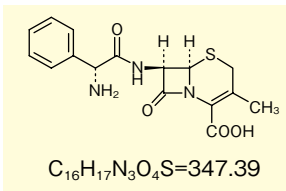


コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
038-22121	Chlorbenside Standard	残留農薬試験用	100mg	12,000
032-22021	Clodinafop Standard	残留農薬試験用	100mg	20,000
158-03011	Oxycarboxin Standard	残留農薬試験用	100mg	11,000
198-16401	Spiroxamine Standard (mixture of isomers)	残留農薬試験用	100mg	12,000

動物用医薬品標準品

セファレキシン標準品

化学名: (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-Amino-2-phenylacetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic Acid
CAS No.: 15686-71-2
含量 (HPLC): 98.0% 以上
外観: 白色～わずかにうすい黄色、結晶性粉末～粉末
備考: 抗生物質



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
035-22371	Cefalexin Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	20,000

その他のポジティブリスト関連品目は下記 URL をご参照下さい。
http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/env/article/positivelist_1.htm

品目追加



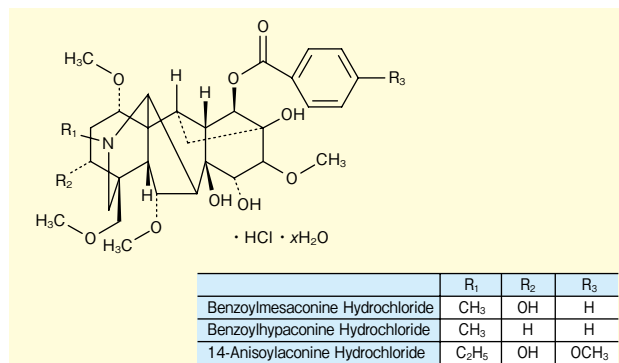
生薬試験用標準品

局方生薬試験用標準品及び生薬試験用標準品 (当社規格) の追加品目をご紹介します。

当社では、局方規格品 80 品目、自主規格の高純度生薬標準品 50 品目、計 130 品目を取り揃えております。品目は順次追加しております。詳細は当社営業または代理店へお問合せ下さい。また、下記 HP でもご覧頂けます。
http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/index_analysis.htm#5

ブシモノエステルアルカロイド混合標準物質

本品は、定量用ベンゾイルメサコニン塩酸塩 0.1mg、定量用ベンゾイルヒパコニン塩酸塩 0.05mg、定量用 14-アニソイルアコニン塩酸塩 0.1mg を含む混合標準品です。使用時、ブシ用りん酸塩緩衝液 / テトラヒドロフラン混液 (183 : 17) 5ml に正確に溶解してご使用下さい。溶解した溶液は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のブシモノエステルアルカロイド混合標準試液、定量用に適合します。「牛車腎気丸エキス」、「真武湯エキス」、「八味地黄丸エキス」の総アルカロイド定量用として用いられています。

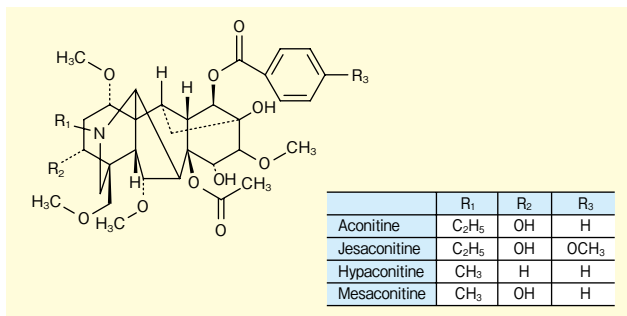


[次頁に続く]

■ プシジエステルアルカロイド混合標準物質

本品は、純度試験用アコニチン 0.05mg、純度試験用ジェサコニチン 0.05mg、純度試験用ヒパコニチン 0.15mg、純度試験用メサコニチン 0.1mg を含む混合標準品です。使用時、プシヨリン酸塩緩衝液 / アセトニトリル混液 (1 : 1) 5ml に正確に溶解してご使用下さい。溶解した溶液は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のプシジエステルアルカロイド混合標準溶液、純度試験用に適合します。「プシ」や「牛車腎気丸エキス」、「真武湯エキス」などの純度試験に用いられています。

プシは、鎮痛薬、強心薬、利尿薬とみなされる漢方処方に含まれています。

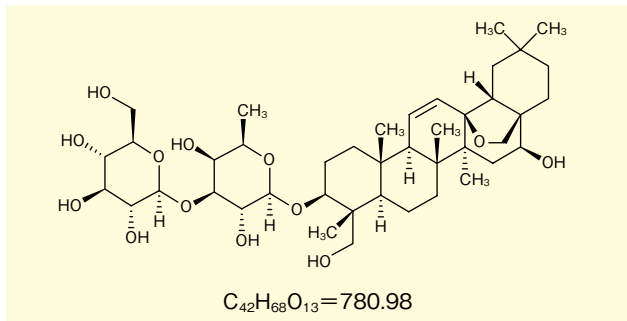


■ サイコサポニン a

本品は、日本薬局方一般試験法 試薬・試液のサイコサポニン a、定量用及び薄層クロマトグラフィー用に適合しています。「サイコ (柴胡)」の確認試験、「サイコサポニン a」の定量法に用いられています。

サイコサポニン a は、サイコに含まれているサポニンです。サイコは、解熱鎮痛薬とみなされる漢方処方に含まれています。

● CAS No. : 20736-09-8



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
014-23721	Aconitum Monoester Alkaloids Standard	局方生薬試験用 (定量用)	0.25mg	58,000
018-23741	Aconitum Diester Alkaloids Standard	局方生薬試験用 (純度試験用)	0.35mg	20,000
192-16281	Saikosaponin a	局方生薬試験用 (定量用・薄層クロマトグラフィー用)	25mg	28,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
199-16171	Saikosaponin b ₂	局方生薬試験用 (定量用・薄層クロマトグラフィー用)	20mg	34,000

品目追加



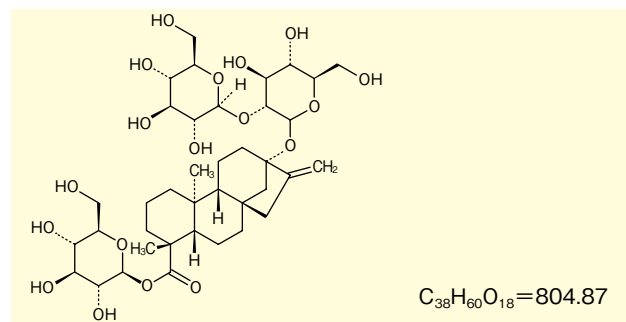
ステビア抽出物

南米原産のキク科植物ステビアから抽出されるステビア抽出物は、世界中で使用されている天然甘味料です。ステビア抽出物には、ステビオシド、ズルコシド A、レバウジオシド A、B、C、D、F などのステビオール配糖体 (ステビオール骨格にグルコースなどが結合したもの) やステビオールが含まれており、ステビオシドは、ショ糖の約 300 倍の甘さをもつことが知られています。

食品添加物公定書に「ステビア抽出物」として、また、JECFA Monographs には「Steviol Glycosides」(ステビオール配糖体) として記載されています。

■ ステビオシド標準品

- 外観：白色の粉末
- 含量 (HPLC) : 99.0% 以上
- CAS No. : 57817-89-7



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
199-16291	Stevioside Standard	食品分析用	100mg	18,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
048-31211	Dulcoside A Standard	食品分析用	25mg	35,000
044-31213			100mg	照会
098-05681	Isosteviol Standard	ステビオシド定量用	1g	23,000
189-02581	Rebaudioside A Standard	食品分析用	100mg	16,000
185-02583			1g	照会
188-02551	Rebaudioside B Standard	食品分析用	25mg	32,000
184-02553			100mg	照会
181-02541	Rebaudioside C	食品分析用	25mg	48,000
180-02511	Rebaudioside D	食品分析用	5mg	照会
186-02611	Rebaudioside F	食品分析用	5mg	28,000
187-02521			25mg	54,000
183-02523	Rubusoside Standard	食品分析用	100mg	照会
192-15701	Steviol Standard	食品分析用	25mg	26,000
198-15703			100mg	88,400
199-15691	Steviolbioside Standard	食品分析用	25mg	32,000
195-15693			100mg	照会

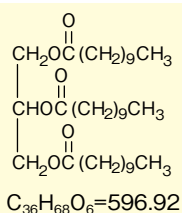
食品分析用 トランス脂肪酸 Wako トリウンデカノイン標準品

トランス脂肪酸は、植物油への水素添加によって製造されたマーガリンやショートニング、天然由来食品では肉類、乳製品などに含まれています。近年、トランス脂肪酸の摂取と心疾患のリスクとの関連が明らかにされており、栄養成分表示の一環としてトランス脂肪酸含有量の表示義務化が検討されています。

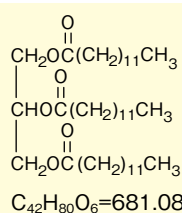
トランス脂肪酸含有量の分析方法には、米国油化学会の公定法 (AOCS Ce1h-05) 及び AOAC インターナショナルの公定法 (AOAC 996.06) があります。炭素数 11 の飽和脂肪酸 (C11:0) で構成されたトリグリセライドであるトリウンデカノインは、AOAC 法におけるトランス脂肪酸の定量用の内部標準物質としてご使用いただけます。

また、種々の飽和脂肪酸で構成された各種トリグリセライドを取り揃えております。

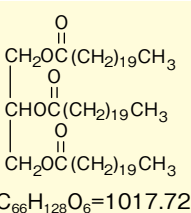
トリウンデカノイン標準品



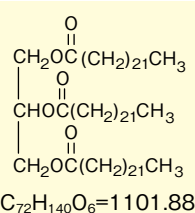
トリトリデカノイン標準品



トリヘンイコサノイン標準品



トリトリコサノイン標準品



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
203-18781	Triundecanoin Standard	食品分析用	100mg	10,000
200-18791	Tritridecanoin Standard	食品分析用	100mg	10,000
205-18501	Triheneicosanoin Standard	食品分析用	100mg	15,000
200-18811	Tritricosanoin Standard	食品分析用	100mg	20,000

関連商品

メチルエステル化剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
029-06172	Boron Trifluoride Methanol	ガスクロマト	25g	2,200
021-06171	Complex Methanol Solution	グラフ用	400g	9,300

内部標準物質

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
084-08661	Heptadecanoic Acid Standard	食品分析用	100mg	6,000

トランス脂肪酸メチルエステル

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
133-16271	Methyl 9,12-Octadecadienoate Standard (mixture of <i>cis</i> - and <i>trans</i> -)	食品分析用	200mg	28,000
130-16281	Methyl 9,12,15-Octadecatrienoate Standard (mixture of <i>cis</i> - and <i>trans</i> -)	食品分析用	200mg	32,000

分析用カラム

コード No.	メーカーコード	品名	長さ(m)	内径(mm)	膜厚(μm)	容量	希望納入価格 (円)
515-80721	054596	BPX90	100	0.25	0.25	1本	195,000

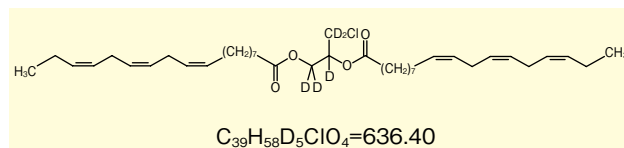
食品分析に

3-MCPD 脂肪酸エステル標準品

このたび、3-MCPD (3-モノクロロ-1,2-プロパンジオール) 脂肪酸エステルの安定同位体標準品を商品化しました。3-MCPD 脂肪酸エステルの分析にご使用下さい。

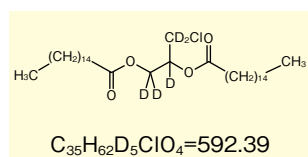
3-MCPD脂肪酸エステル安定同位体

3-クロロ-1,2-プロパンジオール-d₅=ジリノレナート標準品



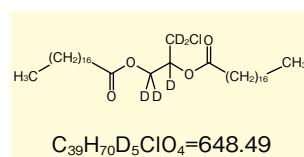
3-クロロ-1,2-プロパンジオール-d₅

=ジパルミタート標準品

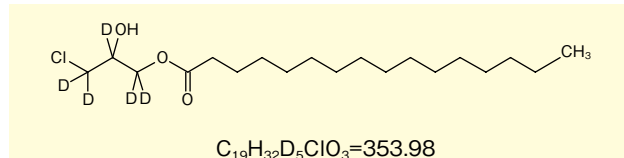


3-クロロ-1,2-プロパンジオール-d₅

=ジステアラート標準品



3-クロロ-1,2-プロパンジオール-1,1,2,3-d₅=1-パルミタート標準品



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
037-22191	3-Chloro-1,2-propanediol-d ₅ Diilinolenate Standard	食品分析用	50mg	40,000
030-22181	3-Chloro-1,2-propanediol-d ₅ Dipalmitate Standard	食品分析用	50mg	40,000
033-22171	3-Chloro-1,2-propanediol-d ₅ Distearate Standard	食品分析用	50mg	40,000
030-22201	3-Chloro-1,2-propanediol-1,1,2,3-d ₅ 1-Palmitate Standard	食品分析用	50mg	60,000

[次頁に続く]

3-MCPD脂肪酸エステル標準品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 032-21781	3-Chloro-1,2-propanediol 1-Palmitate Standard	食品分析用	100mg	35,000
NEW 030-21841	3-Chloro-1,2-propanediol 1-Stearate Standard	食品分析用	100mg	35,000
NEW 039-21791	3-Chloro-1,2-propanediol 1-Oleate Standard	食品分析用	100mg	35,000
NEW 037-21851	3-Chloro-1,2-propanediol 1-Linoleate Standard	食品分析用	100mg	35,000
NEW 034-21861	3-Chloro-1,2-propanediol 1-Linolenate Standard	食品分析用	100mg	35,000
NEW 037-21471	3-Chloro-1,2-propanediol Dipalmitate Standard	食品分析用	100mg	20,000
NEW 038-21881	3-Chloro-1,2-propanediol Distearate Standard	食品分析用	100mg	20,000
NEW 031-21511	3-Chloro-1,2-propanediol Dioleate Standard	食品分析用	100mg	20,000
NEW 035-21891	3-Chloro-1,2-propanediol Dilinoleate Standard	食品分析用	100mg	20,000
NEW 031-21871	3-Chloro-1,2-propanediol Dilinolenate Standard	食品分析用	100mg	20,000

関連商品 その他食品分析用標準品

高純度トリアシルグリセロール(トリグリセリド)標準品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 207-18181	Triolein Standard	食品分析用	100mg	10,000
NEW 207-18201	Tripalmitin Standard	食品分析用	100mg	10,000
NEW 200-18171	Tristearin Standard	食品分析用	100mg	10,000
NEW 204-18191	Trilinolein Standard	食品分析用	100mg	10,000

酒類中のカルバミン酸エチル分析に

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 052-08201	Ethyl Carbamate Standard	食品分析用	100mg	10,000

三薬局方対応

医薬品試験用試薬



本品は、三薬局方（日本薬局方、米国薬局方（USP）、欧州薬局方（EP））の試薬規格に適合した試薬です。このたび、医薬品試験に汎用的に使用される 22 品目の試薬を商品化しました。グローバルな医薬品試験に対応します。

保証規格

- 日本薬局方（JIS 試薬特級）
- Reagents USP（ACS 規格）
- Reagents EP

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
012-23325	Acetic Acid	医薬品試験用	500ml	1,100
019-23335	Acetic Anhydride	医薬品試験用	500ml	2,400
016-23345	Acetone	医薬品試験用	500ml	1,100
013-23355	Ammonia Solution	医薬品試験用	500ml	1,400
044-31615	Diammonium Hydrogen Citrate	医薬品試験用	500g	2,800
047-31605	Diethyl Ether ^{**}	医薬品試験用	500ml	3,000
048-31635	<i>N,N</i> -Dimethylformamide	医薬品試験用	500ml	1,800
041-31505	Disodium Hydrogenphosphate 12-water	医薬品試験用	500g	1,300
053-08155	Ethyl Acetate	医薬品試験用	500ml	1,400
055-08095	Ethanol (95)	医薬品試験用	500ml	2,400
058-08085	Ethanol (99.5)	医薬品試験用	500ml	2,500
NEW 084-09205	Hydrochloric Acid ^{**}	医薬品試験用	500ml	1,300
130-16585	Methanol ^{**}	医薬品試験用	500ml	850
167-24685	Potassium Dihydrogen Phosphate	医薬品試験用	500g	1,800
160-24815	Potassium Hydroxide	医薬品試験用	500g	2,000
160-24795	2-Propanol ^{**}	医薬品試験用	500ml	1,100
198-15965	Sodium Acetate	医薬品試験用	500g	1,600
198-16065	Sodium Acetate Trihydrate	医薬品試験用	500g	1,800
195-15975	Sodium Chloride	医薬品試験用	500g	1,400
192-15985	Sodium Hydroxide	医薬品試験用	500g	1,400
NEW 199-15995	Sulfuric Acid ^{**}	医薬品試験用	500ml	1,400
203-18465	Toluene	医薬品試験用	500ml	800

※二薬局方（日本薬局方、Reagents EP）の適合品です。なお Reagents USP につきましては一部の規格試験を除き、試験結果の報告が可能です。

関連商品

日本薬局方対応

容量分析用標準液

本品は、日本薬局方一般試験法に定められた標定方法に基づいた容量分析用標準液です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
080-08065	1 mol/l Hydrochloric Acid	容量分析用 (局方一般試験法標定品)	500ml	1,150
162-21195	0.02 mol/l Potassium Permanganate Solution	容量分析用 (局方一般試験法標定品)	500ml	2,400
197-13095	0.1 mol/l Sodium Hydroxide Solution	容量分析用 (局方一般試験法標定品)	500ml	1,100
190-13085	1 mol/l Sodium Hydroxide Solution	容量分析用 (局方一般試験法標定品)	500ml	1,300
190-13105	0.05 mol/l Sulfuric Acid	容量分析用 (局方一般試験法標定品)	500ml	1,400

三薬局方対応

液体クロマトグラフィー用溶媒

本品は、日本薬局方、USP、EP の試薬規格に適合した液体クロマトグラフィー用の溶媒です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-21691	Acetonitrile	局方一般試験法用	1ℓ	7,100
015-21693		(液体クロマトグラフィー用)	3ℓ	16,900
136-15661	Methanol	局方一般試験法用	1ℓ	2,900
132-15663		(液体クロマトグラフィー用)	3ℓ	3,800
085-08711	Hexane	局方一般試験法用	1ℓ	3,000
081-08713		(液体クロマトグラフィー用)	3ℓ	5,500

DMF、キシレンを追加しました！ Wako

脱酸素溶媒

本品は、溶存酸素含量 1ppm 以下、水分含量 0.001% (10ppm) 以下を保証した高品質な有機合成用溶媒です。酸素・水分を嫌う有機合成反応にご使用下さい。

本品は、開栓せずにシリンジで直接溶媒を採取できる、特殊キャップを使用しています。

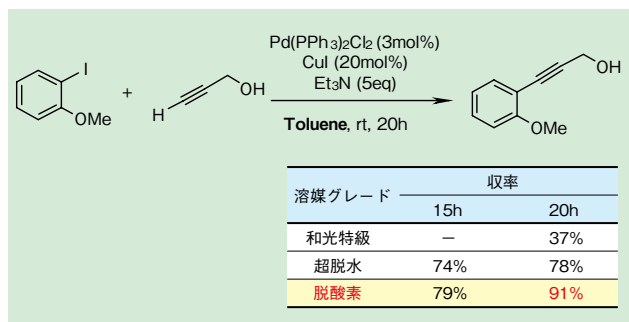


規格例 トルエン (脱酸素)

規格項目	規格値
含量	99.5%以上
密度	0.864~0.868g/ml
溶存酸素	1ppm以下
水分	0.001%以下

反応例

■ 当社既存グレードと脱酸素溶媒を使用した場合の反応効率の比較



コードNo.	品名 (安定剤)	溶存酸素量	水分含量	規格	容量	希望納入価格(円)
044-32075	N, N-Dimethylformamide, Deoxidized	1ppm以下	10ppm以下	有機合成用	500ml	5,100
080-09305	Hexane, Deoxidized			有機合成用	500ml	4,200
208-18535	Tetrahydrofuran, Deoxidized, Stabilizer Free			有機合成用	500ml	4,800
209-18705	Tetrahydrofuran, Deoxidized, with Stabilizer (BHT 0.03%)			有機合成用	500ml	4,900
202-18675	Toluene, Deoxidized			有機合成用	500ml	4,100
241-00895	Xylene, Deoxidized			有機合成用	500ml	照会

※脱酸素溶媒には使用期限があります。

品目追加



電池研究用試薬

水分、塩化物、各種金属含量を保証した電池研究用グレードの溶媒、電解質のラインアップを追加しました。

溶媒

規格例

規格項目	規格値			
	Diethyl Carbonate [DEC]	Dimethyl Carbonate [DMC]	Ethyl Methyl Carbonate [EMC]	Propylene Carbonate [PC]
含量 (cGC)	98.0%以上	98.0%以上	98.0%以上	98.0%以上
水分	20ppm以下	20ppm以下	20ppm以下	20ppm以下
酸 (H ₂ CO ₃ として)	0.02%以下	0.1%以下	—	—
塩化物	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下
Ca	1.0ppm以下	1.0ppm以下	1.0ppm以下	1.0ppm以下
Fe				
K				
Na				

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
047-31921	Diethyl Carbonate [DEC]	電池研究用	100ml	3,000
049-31925			500ml	6,000
044-31931	Dimethyl Carbonate [DMC]	電池研究用	100ml	3,000
046-31935			500ml	6,000
058-08301	Ethyl Methyl Carbonate [EMC]	電池研究用	100ml	2,500
050-08305			500ml	5,200
169-25201	Propylene Carbonate [PC]	電池研究用	100ml	2,600
161-25205			500ml	4,800

※電池研究用溶媒には使用期限があります。

電解質

規格例 ヘキサフルオロリン酸リチウム [LiPF₆]

規格項目	規格値	規格項目	規格値
含量 (差数法による)	99.0%以上	Cr	2ppm以下
水分	50ppm以下	Cu	2ppm以下
酸 (HPF ₆ として)	0.01%以下	Fe	2ppm以下
塩基 (LiOHとして)	0.01%以下	K	5ppm以下
塩化物	5ppm以下	Mg	2ppm以下
硫酸塩 (SO ₄)	20ppm以下	Na	5ppm以下
硝酸塩 (NO ₃)	5ppm以下	Ni	2ppm以下
Al	2ppm以下	Pb	2ppm以下
Ca	2ppm以下	Zn	2ppm以下

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
121-05921	Lithium Hexafluorophosphate [LiPF ₆]	電池研究用	10g	4,000
127-05923			50g	8,500
123-06042	Lithium Perchlorate [LiClO ₄]	電池研究用	25g	6,000
125-06041			100g	18,000
128-06031	Lithium Tetrafluoroborate [LiBF ₄]	電池研究用	5g	5,500
126-06032			25g	12,000

実験器具洗浄用 洗剤



コンタミノン[®] LS-II

ご好評いただいております、実験器具の洗浄剤「コンタミノン[®] シリーズ」に、より強力に汚れを落とすアルカリ性洗剤「コンタミノン[®] LS-II」を追加しました。容器は減容ボトルを採用しており、折りたたんで廃棄することができます。

特長

- アルカリ性、無りんタイプ
- コンタミノン[®] LSよりもアルカリ性が強く、油污れ、血液の汚れなどによく効く
- 減容ボトルを採用し、折りたたんで廃棄可能

<廃棄方法>

- ①中を使い切った後、ふたを外します。両手で上から抑えるようにたたみます。
- ②上下を内側に折りたたみます。
- ③ボトル内の空気を抜いた後、ふたを締めて下さい。



使用方法

通常の汚れ：1～2%、ひどい汚れ：5%、極端な汚れ：10～20%に薄め、2～24時間浸漬してお使い下さい。

成分

水酸化ナトリウム（1～5%）、水酸化カリウム（1～5%）、その他成分（界面活性剤、溶剤）

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
035-22251	Contaminon [®] LS-II	器具洗浄用	2ℓ	3,500
031-22253			5ℓ	7,000
033-22257			20ℓ	17,000

関連商品

目的に合わせて使い分けできる、実験器具の洗浄剤「コンタミノン[®] シリーズ」を是非、お試し下さい。

用途	酸性	中性	弱アルカリ性	アルカリ性
実験器具		コンタミノン [®] N	コンタミノン [®] L コンタミノン [®] HB	コンタミノン [®] LS-II コンタミノン [®] B(粉) コンタミノン [®] (粉)
血液・タンパク汚れ	コンタミノン [®] AC			
精密理化学機器			コンタミノン [®] O(粉)	
超音波洗浄機用			コンタミノン [®] US	

コンタミノン[®] シリーズは、液体洗剤です（(粉)と書いてあるものは除く）。コンタミノン[®] シリーズは、無りんタイプです（但し、コンタミノン[®] は除く）。

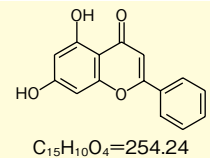
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
032-08581	Contaminon [®]	器具洗浄用	1kg	2,500
037-09751	Contaminon [®] B	器具洗浄用	1kg	3,100
032-15311	Contaminon [®] HB	器具洗浄用	2ℓ	3,900
035-09311	Contaminon [®] L	重金属洗浄用	2ℓ	2,900
033-09317			20ℓ	19,000
038-10391	Contaminon [®] O	器具洗浄用	3kg	9,600
031-10401	Contaminon [®] US	自動洗浄機用	2ℓ	3,800
031-10381	Contaminon [®] AC	器具洗浄用	2ℓ	3,800
037-10361	Contaminon [®] N	器具洗浄用	2ℓ	3,800
035-10367			20ℓ	24,000

フラボノイド クリシン



クリシンは、果実の果皮、プロポリスなどに含まれるフラボノイドの一つで、抗酸化作用、抗炎症作用、抗腫瘍作用などを示します。アロマトラーゼ阻害作用やアポトーシス誘導作用も報告されています。また、ダイオキシンのレセプターとして注目されているアрил炭化水素レセプター(AhR)に結合することが報告されており、ダイオキシン毒性改善について研究されています。

- 含量(HPLC)：98.0%以上
- 外観：ごくうすい黄色～褐色、結晶性粉末～粉末
- 溶解性：ジメチルスルホキシドに可溶
- CAS No.：480-40-0



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 033-22311	Chrysin	細胞生物学用	5g	5,500
NEW 031-22312			25g	12,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
010-18914	Apigenin	生化学用	5mg	4,400
016-18911			10mg	5,000
012-18913			50mg	10,000
030-21961	Cyanidin Chloride	細胞生物学用	1mg	7,000
036-21963			10mg	32,000
088-07341	Hesperidin	和光一級	5g	2,800
086-07342			25g	5,000
110-00451	Kaempferol [3,4',5,7-Tetrahydroxyflavone]	化学用	25mg	7,000
137-16791	Myricetin	細胞生物学用	25mg	8,000
133-16793			250mg	48,000
171-00404	Quercetin Dihydrate	化学用	100mg	3,200
177-00401			1g	3,600
173-00403			10g	7,000
181-00341	Rutin	-	5g	1,600
189-00342			25g	3,100
129-04001	3',4',5,7-Tetrahydroxyflavone [Luteolin]	化学用	25mg	6,000

がん研究に



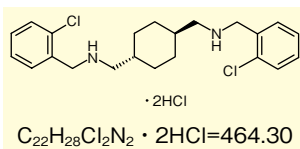
Hedgehog シグナル阻害剤

Hedgehog (Hh) シグナルは、胎生期の臓器形成、胚発生、分化などに関わるモルフォゲン（形原）のひとつです。また、形態異常やさまざまながんの発生・進展に関与していることも知られています。そのため、Hh シグナル伝達経路を標的とした新規薬剤の研究が進められています。

■ AY9944

AY9944 は、 Δ^7 -デヒドロコレステロール還元酵素に働き、コレステロールの生合成及びエステル化を阻害します。また、線維芽細胞において、酸性スフィンゴミエリナーゼ活性を急速かつ不可逆的に誘導することも報告されています。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- $IC_{50} = 14 \mu\text{mol}/\ell$
- CAS No. : 366-93-8



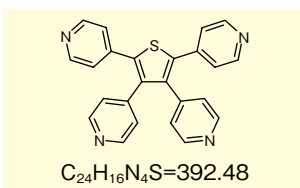
【参考文献】

1) Moebius, F. F. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 1899 (1998).

■ GANT58

GANT58 は、GLI1 の核内蓄積を引き起こす smoothend (Smo) 及び SUFU 下流の Hh シグナル伝達経路を選択的に阻害します。また、GLI1 伸介遺伝子の転写促進も標的とします。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- $IC_{50} = 5 \mu\text{mol}/\ell$
- CAS No. : 64048-12-0



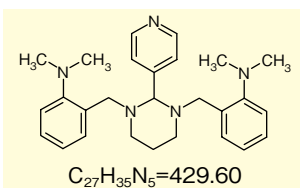
【参考文献】

1) Lauth, M. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 8455 (2007).

■ GANT61

GANT61 は、GLI アンタゴニストであり、GLI1 の転写活性を抑制します。GANT58 とは薬理的性質は類似していますが、GANT61 のみが HEK293 細胞における GLI 遺伝子結合の阻害作用をもちます。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- $IC_{50} = 5 \mu\text{mol}/\ell$
- CAS No. : 500579-04-4



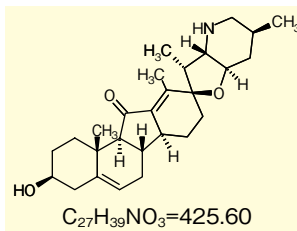
【参考文献】

1) Lauth, M. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 8455 (2007).

■ ジェルビン

ジェルビンは、細胞透過性のステロイド系アルカロイドであり、構造的にはシクロパミンと類似しています。ソニックヘッジホッグ (Shh) シグナル伝達経路を阻害します。

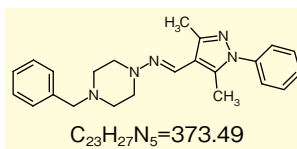
- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- CAS No. : 469-59-0



■ SANT-1

SANT-1 は、細胞透過性の強力な Shh シグナル伝達経路のアンタゴニストであり、Smo に直接結合することにより阻害します。シクロパミンとは異なり、SANT-1 は野生型及び発がん性 Smo に対し同等の阻害能を示します。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- $IC_{50} = 20 \text{nmol}/\ell$
- CAS No. : 304909-07-7



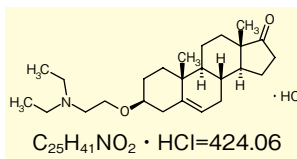
【参考文献】

1) Chen, J. K. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14071 (2002).

■ U18666A

U18666A は、細胞透過性の Hh シグナル伝達経路の弱い阻害剤です。コレステロールの合成及び細胞内輸送を阻害します。

- 含量 (HPLC) : 96.0% 以上
- $IC_{50} = 4.2 \mu\text{mol}/\ell$
- CAS No. : 3039-71-2



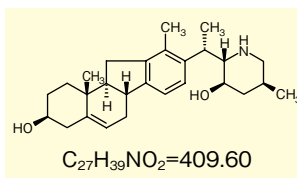
【参考文献】

1) Bae, S-H. *et al.* : *Biochem. J.*, **353**, 689 (2001).

■ ベラトラミン

ベラトラミンは、細胞透過性のステロイド系アルカロイドです。Shh シグナル伝達経路の阻害剤として用いられます。シクロパミンやジェルビンと類似の構造をもちます。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- CAS No. : 60-70-8



【次頁に続く】

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 011-23851	AY9944	細胞生物学用	5mg	25,000
NEW 072-05981	GANT58	細胞生物学用	5mg	25,000
NEW 079-05991	GANT61	細胞生物学用	5mg	21,500
NEW 100-00151	Jervine	細胞生物学用	1mg	23,000
NEW 197-16351	SANT-1	細胞生物学用	5mg	22,000
NEW 218-01441	U18666A	細胞生物学用	5mg	15,000
NEW 228-01861	Veratramine	細胞生物学用	5mg	20,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
Hedgehogシグナルアンタゴニスト				
038-19311	Cyclopamine	細胞生物学用	1mg	20,000
067-02191	Forskolin	生化学用	10mg	13,600
063-02193			25mg	30,000
184-02531	Rapamycin (mixture of isomers)	細胞生物学用	1mg	20,000
180-02533			10mg	54,000
188-02534			50mg	180,000
Hedgehogシグナルアゴニスト				
166-23991	Purmorphamine	細胞生物学用	5mg	32,000

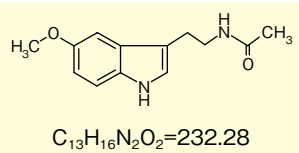
松果体ホルモン



メラトニン

メラトニンは、メラトニン受容体 MT1 及び MT2 におけるアゴニストとして働きます。松果体から分泌されるため、睡眠のリズムを司る化学物質です。また、免疫調節活性や、*in vivo* において強力な抗酸化作用も示します。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- 外観 : 白色～うすい褐色、結晶～粉末
- メタノール溶液 : 20mg/ml
- CAS No. : 73-31-4



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 139-17111	Melatonin	生化学用	250mg	3,200
NEW 135-17113			1g	8,000
NEW 133-17114			5g	24,000

タンパク質サンプルからの DNA・RNA 除去に!



SEMヌクレアーゼ, 組換え体, 溶液

本品は、*Serratia marcescens* 由来のエンドヌクレアーゼ遺伝子を発現する大腸菌から精製した組換えヌクレアーゼです。あらゆる形状の DNA 及び RNA (一本鎖、二本鎖、直鎖状、環状) に作用し、2~5塩基対のオリゴヌクレオチドに分解します。なお、本品は、タンパク質分解活性を示しません。

特長

- SDS-PAGE や 2D 電気泳動用の試料中 DNA・RNA 除去
- 細胞溶解液からの組換えタンパク質の精製工程で使用
- 組換え体なので安定供給可能

製品概要

- 分子量 : 約 30k
- 組成 : 50mmol/l Tris-HCl, pH 8.0, 20mmol/l Sodium chloride, 2mmol/l Magnesium chloride, 50w/v% Glycerol.
- 活性 : ラベルに記載 (約 250 units / μ l)
- ユニット定義 : 260nm における吸光度を 30 分間に 1.0 変化させる酵素量を 1 unit とする。
- 含量 : > 95% (SDS-PAGE)
- 起源 : *E. coli* expressed *Serratia marcescens* Nuclease
- 至適反応条件 :

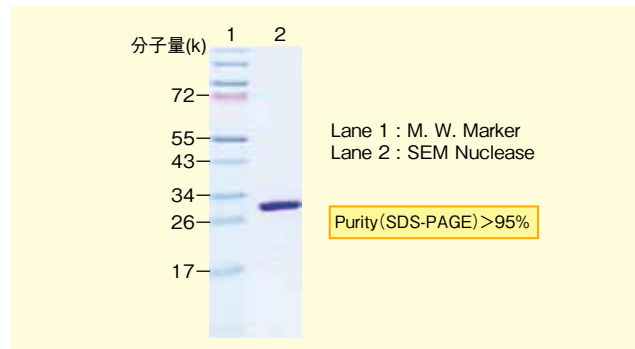
反応条件	最適条件
Mg ²⁺ 濃度	1-2mmol/l
pH	8.0-9.0
温度	37°C
Dithiothreitol	0-100mmol/l
2-Mercaptoethanol	0-100mmol/l
一価性イオン濃度 (Na ⁺ , K ⁺ など)	0-20mmol/l

本品の使用にあたっては、使用サンプルなどに応じて、最適な使用濃度や反応条件を検討して下さい。

その他、詳細情報は本品添付の現品説明書をご参照下さい。

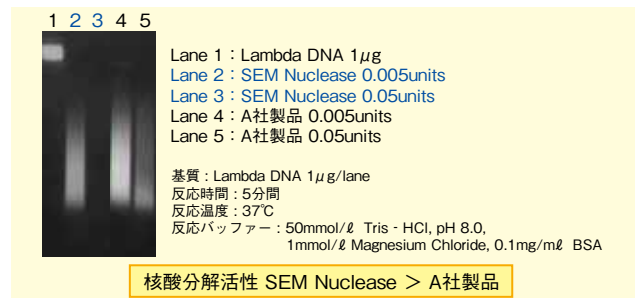
データ

SEM Nuclease 精製度



※ 99% グレード品につきましては別途ご照会下さい。

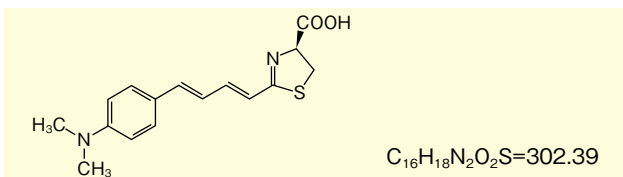
他社製品との DNA 分解活性比較



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 196-16181	SEM Nuclease, recombinant, Solution	遺伝子研究用	25kunits	30,000

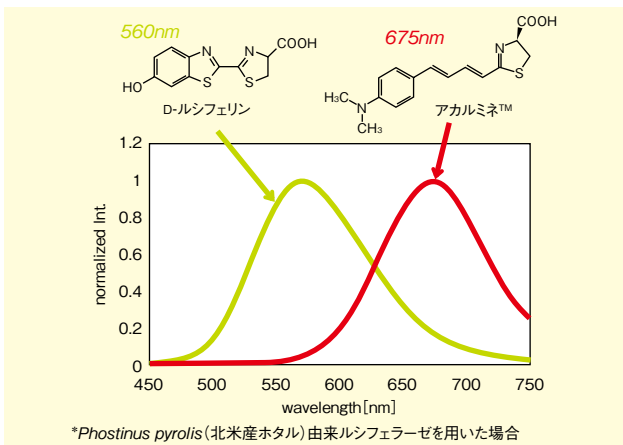
近赤外発光ルシフェリンアナログ アカルミネ™

本品は、670～680nmに発光ピークをもつルシフェリンアナログです。水、ヘモグロビンの吸収を受けにくい生体の窓に発光ピークをもつため生体深部の *in vivo* イメージングに適しています。イメージング実験の際にご活用下さい。



製品概要

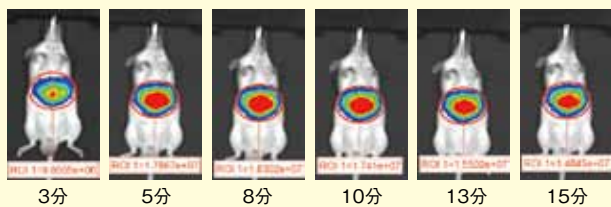
- 発光波長：675nm



- 溶解性：水、50mmol/ℓ リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.0) ……500 μmol/ℓ

データ

■ アカルミネ™ 投与後の撮影像



ルシフェラーゼを肝臓で発現させたマウスにアカルミネ™ 1mgを腹腔内投与した。

調製法：アカルミネ™ 1mgをDMSO 60μℓで溶解後、PBS (Ca不含) 1mℓで希釈。

(データご提供：筑波大学代謝内科 武内謙憲先生)

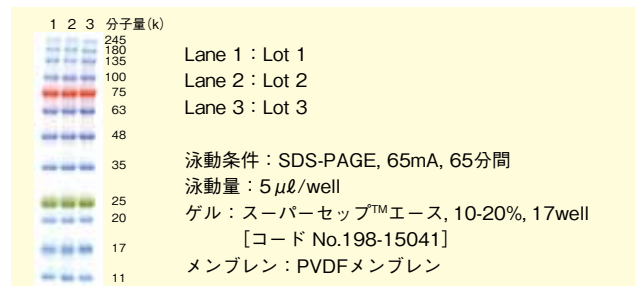
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-23691	アカルミネ™	生化学用	1mg	20,000
013-23693			5mg	80,000

高品質プレスティンタンパク質サイズマーカー ワイドビュー™ プレスティンタンパク質サイズマーカーⅢ

本品は、着色済みのタンパク質サイズマーカーです。12個の組換えタンパク質にはそれぞれ発色団が共有結合しており、75kのバンドは赤色、25kのバンドは緑色、その他のバンドは青色を呈します。

特長

- 鮮明なバンド
- 安定高品質 (下図)
- 実験ノート用マーカーシール付属



ロット間で品質が保たれていることを確認できた。

製品概要

- バンド数：12
- 各バンドの分子量(k)：245, 180, 135, 100, 75, 63, 48, 35, 25, 20, 17, 11

使用方法

1. 本品を室温で解凍して下さい。解凍しにくい場合は約37℃で温めて下さい。
2. 解凍後、溶液が均一になるよう軽く振って下さい。
3. ゲルに5 μℓ/wellをアプライして下さい。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
230-02461	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker Ⅲ	電気泳動用	500μℓ (100回用)	22,000

関連商品 タンパク質サイズマーカー

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker 着色済みのタンパク質サイズマーカーです。 各バンドの分子量：150, 100, 70, 50 (pink), 40, 30, 20, 15 (k)	電気泳動用	500μℓ	18,000
294-63101	Molecular Weight Marker, Low Range 低分子向けのCBB染色用マーカーです。 各バンドの分子量：42, 30, 20, 17, 6.5, 3.5 (k)	電気泳動用	1mℓ用	14,000
131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range 中分子向けのCBB染色用マーカーです。 各バンドの分子量：79, 42, 30, 20, 14 (k)	電気泳動用	1mℓ用	14,000
296-63301	Molecular Weight Marker, Wide Range CBB染色用ワイドレンジマーカーです。 各バンドの分子量：180, 116, 97, 79, 42, 30, 20, 14, 6.5 (k)	電気泳動用	1mℓ用	13,000

パラフィン包埋組織切片



サル組織切片

本品は、病態モデルではないカンクイザルのパラフィン包埋組織切片です。10%中性緩衝ホルマリン液で3日間固定した組織を使用しています。HE染色、免疫染色などの組織染色にご利用下さい。

製品概要

- 切片の厚さ：約3 μm
- 固定方法：10%中性緩衝ホルマリン液
- 年齢・性別：8歳・オス



製品には保護シールを添付しています。ご使用の際に剥がして下さい。

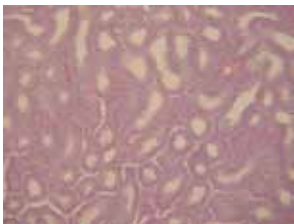
染色例



直腸 HE染色



胃 HE染色



精巣 HE染色



脳 NeuN免疫染色

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 084-09381	HistoMap™ Monkey Normal Heart, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	5枚	36,000
NEW 081-09391	HistoMap™ Monkey Normal Rectum, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	5枚	36,000
NEW 085-09431	HistoMap™ Monkey Normal Testis, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	5枚	36,000
NEW 086-09461	HistoMap™ Monkey Normal Pancreas, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	5枚	36,000
NEW 082-09441	HistoMap™ Monkey Normal Lung, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	10枚	36,000
NEW 089-09451	HistoMap™ Monkey Normal Cerebrum, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	10枚	32,000
NEW 084-09401	HistoMap™ Monkey Normal Stomach, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	10枚	25,000
NEW 081-09411	HistoMap™ Monkey Normal Liver, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	10枚	25,000
NEW 088-09421	HistoMap™ Monkey Normal Kidney, Paraffin Embedded Tissue Section	病理研究用	10枚	38,000

電子顕微鏡用



組織脱水溶液100

組織脱水溶液99

本品は、従来のエタノール純度を保持し苦味成分であるビトレックスを添加した変性アルコールです。本品には、脱水剤としてゼオライトパック (3Å) を入れていますので、すぐにご使用できます。ゼオライトや無水硫酸銅を加えて無水アルコールを作成する手間が省けます。

製品概要

■ 組織脱水溶液 100

- エタノール：99.8%以上
- 水分含量：0.2%以下
- ビトレックス、ゼオライトパック添加済み

■ 組織脱水溶液 99

- エタノール：99%以上
- アセトン：0.7%
- 水分含量：0.2%以下
- ビトレックス、ゼオライトパック添加済み

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 208-17435	Tissue Dehydration Solution 100	電子顕微鏡用	500ml	4,200
NEW 205-17445	Tissue Dehydration Solution 99	電子顕微鏡用	500ml	4,200

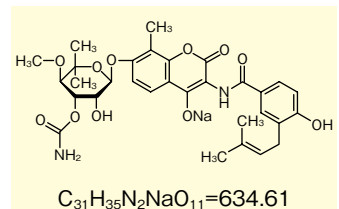
抗生物質



ノボビオシンナトリウム

本品は、大腸菌や枯草菌のDNAジャイレースを特異的に阻害する抗生物質です。グラム陽性菌、陰性菌に有効です。各種食品、飲料水中の大腸菌群検査や医薬品中の大腸菌群の増菌、確認、分離などに用いられます。

- 含量(HPLC)：95.0%以上
- 力価(乾燥物換算)：
850 μg/mg以上
- CAS No.：1476-53-5



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 146-09091	Novobiocin Sodium	細胞生物学用	5g	8,000
NEW 144-09092	Salt		25g	30,000

掲載品以外にも多数の抗生物質を取扱っております。製品の検索は、当社カタログまたは試薬検索サイト (<http://www.siyaku.com/>) をご覧下さい。

動物細胞の培養に



細胞培養用試薬

当社では液体培地をはじめとして平衡塩溶液、トリプシン EDTA 溶液、抗生物質溶液、添加溶液などの製品の品揃えを充実させております。

液体培地

D-MEM、E-MEM、RPMI-1640 などの汎用されている製品群を品揃えしています。ろ過滅菌済みのため、培養温度 (37℃ 付近) に温めてそのままご使用下さい。

品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験、細胞培養試験 など

コード No.	品名	L-グルタミン	フェノールレッド	ヒルビン酸	HEPES	備考	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	1,850
045-30285		—	●	—	—		細胞培養用	500ml	1,250
045-32245		—	●	●	—		細胞培養用	500ml	2,700
042-32015		—	●	—	●		細胞培養用	500ml	2,700
040-30095		—	—	—	—		細胞培養用	500ml	1,250
041-29775	D-MEM (Low Glucose)	●	●	●	—		細胞培養用	500ml	1,250
042-32255	D-MEM (No Glucose)	●	●	—	—		細胞培養用	500ml	4,200
051-07615	E-MEM	●	●	—	—		細胞培養用	500ml	1,200
056-08385		—	●	—	—	非必須アミノ酸含有	細胞培養用	500ml	2,100
078-05525	G-MEM	●	●	—	—		細胞培養用	500ml	2,000
135-15175	MEM α	●	●	●	—		細胞培養用	500ml	1,200
137-17215		●	●	●	—	ヌクレオシド含有	細胞培養用	500ml	3,000
134-17225		●	—	●	—		細胞培養用	500ml	3,100
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
187-02705		●	●	●	●	4,500mg/l グルコース含有	細胞培養用	500ml	4,000
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
046-32275		—	●	●	—	L-アラニン-L-グルタミン含有	細胞培養用	500ml	3,000
042-30555		●	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,650
045-30665		●	—	●	—		細胞培養用	500ml	6,000
049-32265		●	—	●	●		細胞培養用	500ml	2,800
042-30795		—	●	●	●		細胞培養用	500ml	1,650
098-06465	IMDM	●	●	●	●		細胞培養用	500ml	2,300
128-06075	Leibovitz's L-15 Medium	●	●	●	—		細胞培養用	500ml	2,600

抗生物質溶液

細胞培養時に、各種微生物の増殖を抑える抗生物質です。コンタミネーションの防止や遺伝子導入細胞の選抜などに使用できます。ろ過滅菌処理されていますので、そのまま液体培地に添加してご使用下さい。

品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験 など

コード No.	品名	活性の対象					規格	容量	希望納入価格 (円)
		グラム陽性菌	グラム陰性菌	酵母	カビ	マイコプラズマ			
019-23891	Amphotericin B Suspension			●	●		細胞培養用	50ml	6,600
076-05381	G-418 Sulfate Solution	●	●	●	●		遺伝子研究用	20ml	20,000
072-05383								100ml	85,000
078-06061	Gentamicin Sulfate Solution 本品は、ゲンタマイシン硫酸塩を水で50mg/mlに調製しています。	●	●				細胞培養用	10ml	8,000
117-00961	Kanamycin Sulfate Solution 本品は、カナマイシン硫酸塩を0.85w/v%塩化ナトリウム溶液で50mg/mlに調製しています。	●	●				細胞培養用	20ml	6,000
133-15931	1mg/ml Mitomycin C Solution	●	●				細胞培養用	1ml	10,000
164-25251	Penicillin-Streptomycin Solution (x50)	●	●				細胞培養用	100ml	3,000
168-23191	Penicillin-Streptomycin Solution (x100)	●	●				細胞培養用	100ml	3,500
161-23181	Penicillin-Streptomycin-Amphotericin B Suspension (x100)	●	●	●	●		細胞培養用	100ml	4,600
161-23201	Penicillin-Streptomycin-L-Glutamine Solution (x100)	●	●				細胞培養用	100ml	4,000

[次頁に続く]

■ 平衡塩溶液

D-PBS(-)、PBS(-)、HBSS(-)、HBSS(+)をラインアップしています。本品は、ろ過滅菌済みです。細胞内外の浸透圧を維持しながらの細胞の洗浄や希釈を行う際にご使用下さい。

品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験 など

コード No.	品 名	規 格	容 量	経銷入価(円)
045-29795	D-PBS(-) ^{*1,2}	細胞培養用	500ml	1,200
048-29805	10×D-PBS(-) ^{*1,2}	細胞培養用	500ml	2,300
166-23555	PBS(-) ^{*1,2}	細胞培養用	500ml	1,600
NEW 163-25265	10×PBS(-) ^{*1,2}	細胞培養用	500ml	3,400
084-08345	HBSS(-) ^{*2} with Phenol Red	細胞培養用	500ml	1,200
NEW 085-09355	HBSS(-) ^{*2} without Phenol Red	細胞培養用	500ml	1,900
NEW 082-09365	HBSS(+) ^{*2} with Phenol Red	細胞培養用	500ml	1,900
084-08965	HBSS(+) ^{*2} without Phenol Red	細胞培養用	500ml	1,600

※1：D-PBS(-)はDulbecco's処方PBS(-)のためKClを含んでいますが、PBS(-)はKClを含んでいません。

※2：(+)はMg²⁺とCa²⁺を含んでいますが、(-)はMg²⁺とCa²⁺を含んでいません。

■ 細胞分散溶液

接着細胞の剥離、各種組織の細胞分散などにご使用下さい。

品質試験

外観、浸透圧、pH、マイコプラズマ試験、実用試験、ウイルス試験^{*3} など

※3：ブタパルボウイルス試験済みのトリプシン(1:250)を使用しています。

コード No.	品 名	規 格	容 量	経銷入価(円)
NEW 201-18841	0.25w/v% Trypsin Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	2,900
202-16931	0.05w/v% Trypsin-0.53mmol/l EDTA·4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800
204-16935		細胞培養用	500ml	6,800
209-16941	0.25w/v% Trypsin-1mmol/l EDTA·4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800
201-16945		細胞培養用	500ml	6,800
208-17251	0.5w/v% Trypsin-5.3mmol/l EDTA·4Na Solution without Phenol Red (×10)	細胞培養用	100ml	4,200
206-17291	0.5w/v% Trypsin-5.3mmol/l EDTA·4Na Solution with Phenol Red (×10)	細胞培養用	100ml	4,200

■ 培地添加溶液 など

培地構成成分の濃縮溶液や、30w/v% アルブミン溶液(ウシ血清由来)を取り揃えております。各成分不含培地への添加、培地中の各成分の濃度を高める際にご使用頂けます。ろ過滅菌処理されていますので、必要量をそのまま液体培地に添加してご使用下さい。

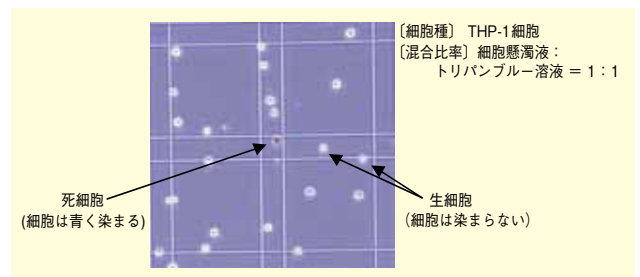
品質試験

外観、浸透圧、pH、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験 など

コード No.	品 名	規 格	容 量	経銷入価(円)
016-21841	200mmol/l L-Alanyl-L-Glutamine Solution (×100) L-グルタミンを含むジペプチドで培地中でL-グルタミンより自然分解されにくいため、L-グルタミンの代替品として用いられます。	細胞培養用	100ml	6,500
017-22231	30w/v% Albumin Solution, from Bovine Serum, Fatty Acid Free	細胞培養用	50ml	28,500
NEW 015-23871	30w/v% Albumin D-PBS(-) Solution, from Bovine Serum, Fatty Acid Free	細胞培養用	50ml	32,000
NEW 012-23881	7.5w/v% Albumin D-PBS(-) Solution, from Bovine Serum	細胞培養用	100ml	8,200
073-05391	200mmol/l L-Glutamine Solution (×100)	細胞培養用	100ml	3,000
079-05511	45w/v% D(+)-Glucose Solution	細胞培養用	100ml	3,500
NEW 093-06351	Insulin Solution, Human, recombinant 本品は、水で10mg/mlに調製されています。	細胞培養用	5ml	18,000
132-15641	MEM Essential Amino Acids Solution (×50)	細胞培養用	100ml	3,000
139-15651	MEM Non-essential Amino Acids Solution (×100)	細胞培養用	100ml	2,800
NEW 130-17141	MEM Vitamin Solution (×100)	細胞培養用	100ml	3,300
NEW 195-16411	7.5w/v% Sodium Bicarbonate Solution	細胞培養用	100ml	1,800
190-14881	100mmol/l Sodium Pyruvate Solution (×100)	細胞培養用	100ml	1,800
196-15645	Sterile Water, Endotoxin Free エンドトキシン規格値は、0.01EU/ml以下です。	細胞培養用	500ml	2,100

■ トリパンブルー溶液

本品は、細胞の生死を判断するために使用される細胞染色液です。死細胞は青く染色されますが、生細胞は染色されないため、血球計算盤を用いて細胞数・細胞生存率を算定できます。本品は、D-PBS(-)で調製されています。



コード No.	品 名	規 格	容 量	経銷入価(円)
207-17081	0.4w/v% Trypan Blue Solution	細胞染色用	100ml	1,800

この他にも細胞培養用試薬を取り揃えています。当社ホームページ(<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/saibou/index.htm>)をご参照下さい。

科学者の家系

ヘンリー・モーズリー（正確にはヘンリー・グウィン・ジェフリース・モーズリー）は、代々科学に貢献した家系の出身である。父方の祖父ヘンリー・モーズリーは数学と物理学に優れ、ロンドン大学キングズ・カレッジの初代の自然哲学教授で、高位聖職者でもあった。母方の祖父ジョン・グウィン・ジェフリースは、イギリスきっての貝類学の大家だった。父ヘンリー・ノティッジ・モーズリーはチャールズ・ダーウインの弟子で、オックスフォード大学に有力な動物学の学派を創始した。3人とも王立協会会員だった。父はモーズリーが4歳のとき亡くなった。わがヘンリー・モーズリーは、偉大な祖先たちのエネルギーと知性と、一つの目的へのひたむきさを、遺憾なく受け継いだ（図1）。

聡明な母アマベルは賢い息子の教育に熱心だった。はるかな目標はオックスフォード大学のベイリアル・カレッジの官費生だった。そのためまずパブリック・スクールの代表校、イートン校を目指した。それも普通に入るのではなく、官費生としてでなければならぬ。モーズリー家は裕福だったから官費の必要はなかったが、イートン校の官費生はキングズ・スカラーと呼ばれて、榮譽と優秀さの印であった。そのためにイートン校への官費生合格者が多い予備校に入った。

イートン校で挑戦的な実験のやり方を経験

14歳で首尾よくキングズ・スカラーとしてイートン校に入学した（1901）。70人のキングズ・スカラーは学内の寮に住み、約1000人の自費生は学外の寄宿舎に住んだ。盛んな運動競技と愛国心の鼓吹によってイートンの特質が形成された。「あまりに賢すぎたり、知的すぎるのは非英国的だと不快がられた、」という校風の中でモーズリー



図1. ヘンリー・モーズリー。オックスフォード大学のベイリアル・トリニティ実験室にて。23歳ごろ。

は古典と数学で好い成績をあげた。イギリスで最初にX線実験をおこなった一人といわれるT.C.ポーターという昔気質の偏屈な先生に出会った。最小限に本を読んで、最大限に挑戦的な実験をするという、その先生の型破りのやり方がモーズリーの気に入った。

大学はケンブリッジよりオックスフォードを選んだのは母の近くにいられるからだだった。ベイリアル・カレッジの官費生にはなれなかったが、トリニティ・カレッジの科学の官費生となった（1906）。卒業を前にして二つの進路を検討した。一つは、オックスフォードで研究してフェローになるか、もしくは物理学のタウンゼンド教授の実験教示者になること。いま一つは、『ネーチャ』誌に広告が出たマンチェスター大学のラザフォードの実験教示者に応募することであった。ラザフォードはイギリス物理学の新しい実力者であった。注目されるのはケンブリッジ大学のキャヴェンディッシュ研究所をモーズリーが全く考慮にいれなかったことである。これはタウンゼンドのJ.J.トムソンへの敵意に影響されたのかもしれない。ラザフォードとタウンゼンドはかつて同じ時にケンブリッジに新設された研究生になったとき、「よそ

者」として教員からも学友からも白眼視された。ラザフォードはニュージーランドの大学、タウンゼンドはアイランドの大学出身だったからである。

母がオックスフォードで広く交際していたことが、モーズリーのためになった。人々の意見を聞きマンチェスターに決めた。ラザフォードの許で、オックスフォード以上に視野が広がるであろうと期待された。5月中旬に会いに行き、放射能のオリジナル研究をしたいと申し出た。7月下旬、採用通知をもらった。

新しい実力者ラザフォードに師事

卒業後直ちにマンチェスター大学の物理学の実験教示者に就任した。ラザフォードが与えたテーマは、1原子のラジウムBとラジウムCが崩壊するとき、いくつのβ粒子が放出するかを決定することで、これはモーズリーに正確な測定と高真空の経験をさせるために選ばれた研究だった。平均して、1個のβ粒子が放出されることをモーズリーは証明して見せた。次いで、高真空中のラジウムはβ粒子の放出によって、どれだけの電位に達することができるかというテーマをもらった。巧妙な装置を工夫して、モーズリーは放射性物質を数週間にわたって10万ボルト以上に維持することができた。さらに、普通の方法では測定できないほど短い半減期の物質の崩壊速度を検出する、簡単で有力な方法を考案し、ファーンとともに、半減期が1/500秒のアクチニウムからの新しい物質を発見した。研修研究を1年間しただけで、急速に熟達した実験家になり、オリジナル研究にかかった。好んで徹夜をした。朝早く研究室に来た人は、15時間ぶっ続けで唯一人で仕事をしていたモーズリーによく出会った。2年後、本来の目的であるオリジナル研究に専念するため、教育職である実験教示者を辞任し、ジョン・ハーリング・フェローになった。

モーズリーは与えられたテーマの他に、他の3件の共同研究をそれぞれの研究者とともにおこない、それらを完了したとき、ラウエのX線回折の実験のニュースがマンチェスターに届いた。モーズリーはこれに非常に興味をもち、チャールズ・ダーウィン（有名なダーウィンの孫）を共同研究者として、X線をテーマに選ぼうとした。師匠にその研究の許可を求めた。しかし断られた。そういう問題は知らないから、指導できないというのである。モーズリーは粘り、説き伏せ、リーズ大学のW.L.ブラッグのところへ行かせてもらうことになった。ブラッグは快く迎えてくれた。いつも自分のやり方を貫くのがモーズリーの流儀だった。気むつかしい師匠の反対をたくみにかわすすべはイートン校で経験済みである。こうして自分の思い通りの研究ができるようになった。

モーズリーの法則

モーズリーがマンチェスターにきたころ、ラザフォードは α 粒子が物質を透過するときの散乱現象から原子の核構造を発見した(1911)。それによると原子の質量は正電荷をもつ小さな核に集中しており、ある距離をおいて負の電荷をもつ電子がそれを取り巻いて原子は電気的に中性になっている。オランダのヴァン・デン・ブルークは、核の電荷数、したがって外側の電子数は、元素を原子量順に並べた周期表の序数に等しいという仮説を提起した。ボーアは原子の構造とそのスペクトルの量子論的説明でこの仮説を採用した。固有X線のK線の振動数がA(原子量)とZ(原子番号)のいずれに従うかの問題でモーズリーはボーアと長い話し合いをした。モーズリーがこの仮説のテストを緊急目的として、元素のX線スペクトルの測定をすることに決めたのは1913年7月である。

まずX線スペクトルの検出には、電離箱の代わりに写真法を導入した。幸

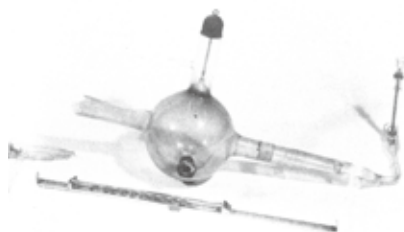


図2. モーズリーのX線装置。これで波長の短いK線を得た。

いにもきわめて良好なフェロシアン化カリウムの結晶が手に入った。試料元素を台車にのせて真空管に封入し、それを動かしてつぎつぎにターゲット(対陰極)にした(図2)。まずCaからZnまでの10元素を調べた(Scは入手できなかった)。わずか2週間で望み通りのスペクトルを得た。その振動数は予想通り、AではなくZに従った。その仕事全体はきわめて簡単だったので、「最小の仕事で、こんなに莫大な報酬を得て後ろめたい想いがする、」と言っている(母への手紙、11月10日)。

ラザフォードの許にいたこと3年、モーズリーはオックスフォードに戻った(11月末)。ラザフォードから次年度もフェローを続けてはと、誘いがあったにもかかわらず、同じ場所に長く留まるのは賢明でないと判断したのである。ラザフォードは一人暮らしの母とともに住むためと理解した。オックスフォード大学ではタウンゼンド教授の研究室を借りて研究したが、正式のポストはなく、財的支援もなかった。装置はほとんど自分で調達した。ラザフォードの推薦によるソルヴェー協会からの1000フランを装置購入に当てた。オックスフォードでは万事がスローで苛立たされることが多かった。原子構造には誰も関心がなかった。偉業はそのオックスフォードで、独立自給の研究者によってなされた。

メンデレーエフの周期表では、CoとNiは原子量順が逆転して配列されている。モーズリーはX線スペクトルを測定した結果、原子番号はそれぞれ、



図3. モーズリーのX線スペクトルの測定。下の2本がK線、上の4本がL線である。

Coが27、Niが28であることを確定した。さらに、Al(13)からAu(79)までの38種の元素のスペクトルを測定した。Agまでは固有X線のK線、それより重い元素ではL線を測定し、振動数の平方根と原子番号の関係がほぼ直線になることを確認した(図3)。元素に固有のX線の振動数は、原子核中の正電荷(ということは原子番号)の2乗に比例した。これはヴァン・デン・ブルークの仮説を強く支持した。周期表の序数を原子番号と呼んだので、「モーズリーは元素を点呼した」と言われた(ソディ)。AlとAuの間に未発見元素は3つ、原子番号はそれぞれ43, 61, 75であることをも示した。

モーズリーと希土類

X線分光学が予期しなかった平易な方法であることが分かると、モーズリーはアベッグの『無機化学便覧』中のマイヤーの希土類化学の論文を、ドイツ語のできる友人に手伝ってもらって読み、希土類についての化学者たちの混乱ぶりを面白く思い、X線装置で一挙に解決して見せようと思った。当

時、ランタノイドはLa (57) で始まり、Ta (73) の前で終わる16元素と考えられていた。モーズリーの研究直前の周期表の一例として、ウェルナー『化学の新思想』(1911)の周期表を見ると、72番まで含まれている。長い間、ランタノイドがいくつあるかが確定されなかった。それまでに希土類として提案されたもの、予想されたものは14~23もあった。数を明言せず、不可知とする化学者もあった。

19世紀の化学者たちは労多い分別結晶によって、ようやく真正のランタノイドは12元素であるところまで漕ぎつけた。当時、ランタンとランタノイドとは別だったから、ランタノイドは13元素ということになる。その最後の、最も重いランタノイドはイッテルビウムだった。それを分離したのはオーストリアのアウアー・フォン・ウェルスバッハで(1905)、それらを「アルデバニウム」、「カシオペイウム」と命名した(1908)、同じころパリのユルバンもイッテルビウムを分離して、「ネオイッテルビウム」と新元素「ルテチウム」を発表した。ユルバンの発表の方が早かったので、先取権が認められ、ウェルスバッハにつよい憤りがこった。両者の競争はさらに激化し、1911年に、ウェルスバッハはツリウムには3つの元素種があると発表し、同じ年に、ユルバンはルテチウムの精製を繰り返して、その母液から新元素「セルチウム」を発表した。しかしその原子量を決定できなかったのが、国際原子量委員会は認めなかったが、当時のかなり多くの周期表に記載された。

モーズリーがオックスフォードでおこなった、第2論文で扱ったランタノイドは、La(57), Ce(58), Pr(59), Nd(60), Sm(62), Eu(63), Gd(64), Ho(66), Dy(67), Er(68)の10元素である。ランタノイドの全部の試料が入手できたわけではなく、市販の試料には不純物が多かった。PrのX線スペクトルには、50%のLa、35%のCeが含ま

57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
La	Ce	Pr	Nd		Sm	Eu	Gd		Ho	Dy	Er				
												Tm I	Tm II	Yb	Lu

図4. モーズリーが研究した希土類元素(1914年論文)。枠外にモーズリーが図3に記入した元素名を記す。この段階では、元素72を含み、ランタノイドを16元素と考えていた。

れ、Prは15%しか含まれていなかった。市販のErには50%のErと50%のHoが含まれていた。NdにはかなりのSmが含まれていた。ウィリアム・クルックスからもらったSm, Eu, Gd, Erの純度は高かった。

図3のEr(68)とTa(73)の間に入る4元素として、かれはTm I(69), Tm II(70), Yb(71), Lu(72)を考えた。ウェルスバッハのツリウムの3元素種のうち、2元素を認めたが、ユルバンのセルチウムには場所を与えなかった。元素61がそれではないかと考えたこともある。この段階ではランタノイドは元素72を含み、16元素と考えていた。YbとLuの原子番号をそれぞれ1番ずつ上げており、HoとDyをとり違えている(図4)。しかし少し後にはこの4元素をTm, NeoYb, Lu, Ct(ヘヴェシーへの手紙、4月23日)と考え直しており、セルチウムを除けば正しい順序になっている。DyとHoの順序も正しくなっている。

ユルバン

モーズリーの研究の重要性を最初に認めた化学者の一人がジョルジュ・ユルバン(1872-1938)である(図5)。かれはピエール・キュリーとの出会い

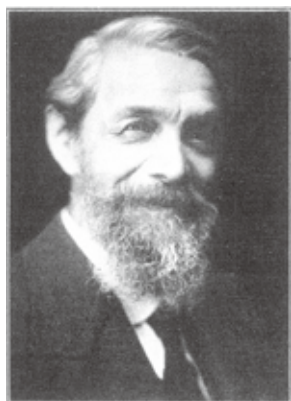


図5. ジョルジュ・ユルバン。

が刺激となって科学に志した。23歳から希土類の研究に入り、25年間に2万回の分別結晶をおこなった。ソルボンヌ大学の教授になると(1908)、その一般化学講義は、350人の大講義室につねに学生を惹きつけて魅了した。

モーズリーのX線の第2論文を見たユルバンは、最良の試料をもってオックスフォードを訪れた。1914年6月2日に着き、2泊した。ユルバン夫妻をパリからオックスフォードまで案内したのは、ラザフォードと犬猿の仲だった大化学者ラムゼーであった。ユルバンの目的は自分が発見したと信じていたセルチウムの確認であった。ユルバン夫妻は全く英語を話せず、モーズリーは不得手なフランス語の応対に疲れたが、この出会いには大きな成果があった。モーズリーにはユルバンはきわめて興味深い人物であり、フランス人の物の考え方がイギリス人と異なることを知らされた。イギリス人ならモデルやアナロジーを求めるところを、フランス人は法則で満足するというのである。

セルチウムが入っているはずの管にはYbとLuしか検出されなかった。ユルバンの失望は大きかった。しかしライバルのTm IIもなく、Tmは唯一つとなったのでほっとした。ランタノイドの最終3元素は、Tm(69), Yb(70), Lu(71)であった(図6)。「セルチウムとは結局、少量のYbを含んだLuである、」(ラザフォードへの手紙)というモーズリーの診断が正しいのである(モーズリーは最後まで研究成果をラザフォードに報告し続けた)。存

69	70	71
Tm	Yb	Lu

図6. モーズリーがユルバンの試料で、最後の3元素を明らかにした。ランタノイドはLu(71)で終わり、15元素となった。

在が確認されなかったのは43, 61, 72, 75である。ランタノイドはルテチウムLuで終わること、そして15元素であることを明らかにした。ユルバンは8つの試料をのこしてパリに戻った。モーズリーの方法は、希土類で最も威力を発揮した。化学者が数年かけて分析したものを数分で解決した。モーズリーにとってもこれが最後の研究となった。モーズリーのテクニックの迅速さと信頼性はユルバンを仰天させた。「モーズリーの法則は、メンデレーエフのロマンチックな分類に取って代わって、完全に科学的な精密さを与えた」と称えた。にもかかわらず第一次大戦が終わると、ユルバンはセルチウムを元素72とする研究を再開した。しかし1922年秋、それはコペンハーゲンでハフニウムHf (72) として発見された。

短い生涯で不朽の業績

1914年の夏、大英科学振興協会年會に招かれて、母とともにオーストラリアへ旅した。メルボルンでは原子構造の討論に参加し、シドニーでは、希土類のX線スペクトルに関する研究を発表した。オーストラリアに到着すると、2日前にイギリスが大戦に参戦したことを聞いた。イートン校で植えつけられた絶対的な愛国心と、当地オーストラリア人の動員に刺激されて、学会が終わると、ただちにイギリスに帰り陸軍に志願した。年末には母のオックスフォード大学地質学教授との再婚に、入隊中のモーズリーはひどく驚かされた。「何がしかの幸福があるのに、こんな大きな賭けに出るなど、私には考えられない」と、姉マーゼリーにもらしている。陸軍では科学に関係した部署を勧められたが、前線に立つことを希望し、英国陸軍工兵隊の通信将校になった。1915年8月10日、トルコのガリポリ半島の戦闘で、側面のわずか200ヤード（約183メートル）の近距離からの、トルコ軍狙撃兵の弾

丸が頭部を貫いた。27歳だった。

死の44日前（1915年6月27日）、アレキサンドリアから母への手紙に次の遺書を記している。「英国地中海派遣軍に服務中の英国陸軍工兵隊中尉ヘンリー・グウィン・ジェフリー・モーズリーは、その財産といずれ継承すべき利権のすべてをロンドン王立協会に遺贈する。それが病理学、物理学、生理学、化学またはその他の科学の分野の、実験研究の助成に用いられることを望む。ただし純粋数学、天文学もしくははたなる記述、目録作成、体系化を目指すいかなる科学部門にも用いられてはならない。」財産は2200ポンドであった。その後、アマベルは1万ポンドを遺贈してモーズリー基金を増やした。（ちなみにハイルブロン著、『モーズリー伝』に収録されているモーズリー書簡、約140通の半数は母に宛てたものである。母に実験の進行を詳細に報告し、論文も出るたびに送っている。）大事にしていた未発表の希土類研究ノートブックも、出国前に母に送った。

ラザフォードはモーズリーを、自分の最良の弟子であると言った。論文はわずか10報（うち共著5報）。最初の研究はラザフォードが直接指導したものである。死後の名声はもっぱら、有名な発見を報じた2報にかかる。元素の高周波スペクトルを支配する簡単な式、モーズリーの法則がそれである。その仕事は1913年7月から翌年5月までの、わずか1年たらずのきわめて短期間でおこなわれた。研究の途中でマンチェスターからオックスフォードへ移転しなかったなら、もっと短くなっていたであろう。

モーズリーのライフワークはわずか40カ月でなされた。彗星のようなキャリアであった。実験家としての徒弟期間はわずか1年で、ただちに深いオリジナル研究に突入した。最適のタイミングで研究の最前線に立った。ラザフォードとボーアの原子構造論という



図7. 図書室のモーズリー。

大義のために、ラウエの発見を活用する絶好のタイミングであった。ボーアは言う、「今日では考えられないが、ラザフォードの原子の核理論は全く問題にされなかった。大きく変化したのはモーズリーが現れてからである、」と。モーズリー自身は、自分の研究は実に簡単なもので、「最小の仕事で、莫大な報酬」を得たと言う。しかもそれが達成された驚異的な迅速さは、「生まれつきの実験家」（ラザフォード）と言うほかはない（図7）。

【参考文献】

Moseley, Henry : "The High-Frequency Spectra of the Elements", *Phil.Mag.*, **26**, 1024- 1034(1913). ; Moseley, Henry : "The High-Frequency Spectra of the Elements, Part II", *Phil.Mag.*, **27**, 703- 713 (1914). ; Moseley, Henry : "Atomic Models and X-ray Spectra", *Nature*, 553- 554 (1914). ; Rutherford, E. : "Henry Gwyn Jeffreys Moseley", *Nature*, 33- 34 (1915). ; Rutherford, E. : "H.G.J.Moseley", *Proc.Roy.Soc.of London*, 93 A, xxii-xxviii (1916). ; Lankester, E.R. : "Moseley", *The London, Edinburgh and Dublin Phil.Mag. and Jour.Sci.*, 173- 6 (1916). ; Rutherford, E. : "Moseley's Work on X-rays", *Nature*, 31316- 317 (1925). ; Sarton, G. : "Moseley. The Numbering of the Elements", *Isis*, 95- 111 (1927). ; Champetier, G. and Boatner, C. : "Georges Urbain", *J.Chem. Edu.*, 103- 109 (1940). ; Smeaton, W.A. : "Moseley and the Numbering of the Elements", *Chem. in Britain*, **1**, 353- 355 (1965). ; Heilbron, J.L. : "The Work of H.G.J.Moseley", *57, Isis*, 336- 364 (1966). ; Heiman, P.M. : "Moseley and Celtium : The Search for a Missing Element", *Annals of Science*, 249- 260 (1967). ; Heiman, P.M. : "Moseley's Interpretation of X-Ray Spectra", *Centaurus*, 261- 274 (1968). ; Heilbron, J.L. : "H.G.J.Moseley. The Life and Letters of an English Physicist, 1887- 1915.", University of California Press (1974). ; Heilbron, J.L. : "Moseley, H.G.J.", *Dic.Sc.Biog.* IX, 542- 545 (1974).

piRNA合成経路の研究に最適!



抗ヒト PIWIL2, モノクローナル抗体 (3C4, 1A12)

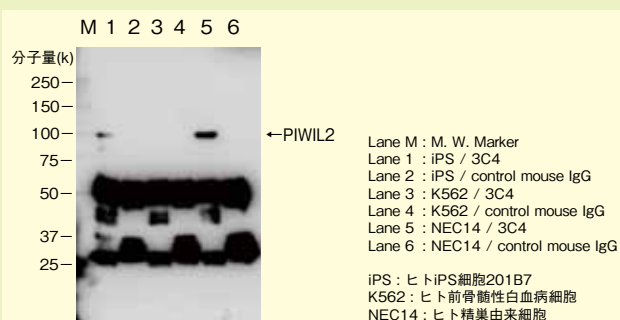
本品は、ヒトPIWIL2 (HILI) を特異的に認識するモノクローナル抗体です。3C4抗体は免疫沈降によりヒトPIWIL2及びpiRNAを回収でき、1A12抗体はウエスタンブロッティングでPIWIL2を検出できます。

特長

- ヒト細胞・組織から内在性PIWIL2を免疫沈降できる (3C4抗体)
- PIWIL2結合性piRNAを取得できる (3C4抗体)
- ウエスタンブロッティングでPIWIL2を検出できる (1A12抗体)

データ

PIWIL2発現解析 (細胞株)



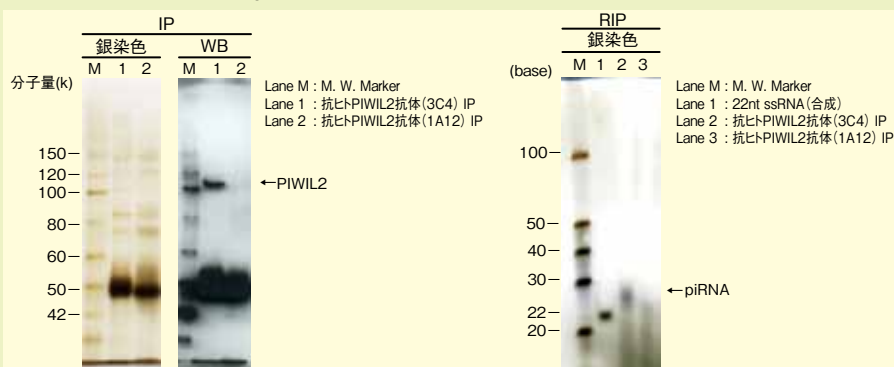
製品概要

コード No.	015-23991	018-23981
クローン No.	3C4	1A12
サブクラス	マウスIgG2b	マウスIgG1
用途	IP, RIP	WB
使用濃度	5~10µg/assay	1~10µg/ml
形状	1×TBS (pH 7.4) aqueous solution with 50% glycerol containing 0.05% sodium azide.	

本品の使用によりPIWIL2の発現を確認しても、細胞・組織の種類に依りてpiRNAが検出できない場合がありますのでご注意ください。

iPS細胞(ヒト)、K562細胞(ヒト)、NEC14細胞(ヒト)からライセートを調製し、Protein G磁気ビーズ20µlにmouse IgGまたは抗PIWIL2モノクローナル抗体(3C4)を各5µg結合させたビーズを添加し、免疫沈降を行った。その後、溶出液を回収し、抗PIWIL2モノクローナル抗体(1A12)を用いたウエスタンブロッティングによりPIWIL2を検出した。その結果、本抗体を用いることで生殖細胞やiPS細胞からヒトの内在性PIWIL2を免疫沈降できることが示された。

PIWIL2免疫沈降とpiRNA回収 (マウス精巣)



ヒト精巣組織(約25mg)からライセートを調製し、Protein G磁気ビーズ20µlにmouse IgGまたは抗PIWIL2モノクローナル抗体(3C4または1A12)を各5µg結合させたビーズを添加し、免疫沈降を行った。その後、溶出液を回収し、銀染色 SDS-PAGE及び抗PIWIL2モノクローナル抗体(1A12)を用いたウエスタンブロッティングによりPIWIL2を検出した。また、免疫沈降後の溶出液からPhenol/Chloroformを用いてsmall RNAを回収し、銀染色 Urea-PAGEで検出した。その結果、本抗体を用いた免疫沈降法により内在性PIWIL2とpiRNAの鎖長に相当するsmall RNAが取得できることが示された。

コード No.	品名	用途	規格	容量	希望納入価格(円)
018-23981	Anti Human PIWIL2, Monoclonal Antibody (1A12)	WB	免疫化学用	50µl	30,000
015-23991	Anti Human PIWIL2, Monoclonal Antibody (3C4)	IP	免疫化学用	50µl	30,000

関連商品

コード No.	品名	用途	規格	容量	希望納入価格(円)
018-22401	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (1F2)	WB.Human & rodents Ago1.	免疫化学用	50µl	30,000
015-22411	Anti Ago1, Monoclonal Antibody (2A7)	IP.Human & rodents Ago1.	免疫化学用	50µl	30,000
011-22033	Anti Human Ago2, Monoclonal Antibody (4G8)	WB, IP, ICC.Human Ago2.	免疫化学用	50µl	30,000
015-22031				100µl	50,000
014-22023	Anti Mouse Ago2, Monoclonal Antibody (2D4)	WB, IP, ICC.Mouse Ago2.	免疫化学用	50µl	30,000
018-22021				100µl	50,000
018-23241	Anti Human Ago3, Monoclonal Antibody (1C12)	IP.Human Ago3.	免疫化学用	50µl	30,000
010-23821	Anti Ago3, Monoclonal Antibody (6-107)	WB.Human & rodents Ago3.	免疫化学用	50µl	30,000
017-23451	Anti PIWIL1, Monoclonal Antibody (2C12)	IP.Human & mouse PIWIL1.	免疫化学用	100µl	30,000

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. 80 No. 2

2012年4月15日発行

発行責任者 上田 衡

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 49-2131-3111-0 / Fax 49-2131-311100