

〔総説〕

「免疫系におけるエクソソームの役割」	華山 力成……………	2
「安全なくすりを探せ！～新規反応性代謝物トラッピング試薬 GSHEE-d ₅ の開発～」	山岡 俊和……………	5
「高活性第1級アルコール酸化触媒：DMN-AZADO」	澁谷 正俊、岩淵 好治……………	8
「第31回 Wako ワークショップ見聞録 細胞死の New Horizon –細胞死研究の先に見えてきたもの」	四元 聡志……………	22

〔化学大家〕

「村橋次郎」	植村 榮……………	25
--------	-----------	----

〔製品紹介〕

有機合成

DMN-AZADO ……………	11
RAFT 剤……………	12
汎用塩基試薬……………	13

環境・分析

反応性代謝物検出試薬	
ゼノスクリーン™ GSH-EE (チューブタイプ)……………	7
プレセップ® RPP 96 ウェルプレート……………	13
GPC 用溶媒 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール ……	13
ポジティブリスト関連標準品……………	14

病 理

中性緩衝ホルマリン液、パラホルムアルデヒド溶液、 25% グルタルアルデヒド溶液……………	18
--------------------------------------------------	----

遺 伝 子

MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS ……	4, 28
-------------------------------------	-------

培 養

NS 基礎培地 /NS サプリメント……………	15
Y-27632, MF……………	16
CultureSure® 10mmol/l CHIR99021 DMSO 溶液、 動物由来物フリー……………	16

免 疫

抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合、 抗 Iba1, ウサギ, 赤色蛍光標識 (635) 結合……………	17
-----------------------------------------------------------	----

細胞生物

オキサダ酸ナトリウム……………	18
シヌクレイン, ヒト, 組換え体……………	19
エルロチニブ塩酸塩……………	19
α-アミラーゼ……………	19

機 器

トキシノメーター® ET-Mini、 リムルス ES-IIプラス CS シングルテストワークー……………	20
---------------------------------------------------------	----

〔お知らせ〕

39 版 総合カタログ CHEMICALS 発行……………	17
エンドキシン試験法セミナー 2016 開催のご案内……………	21

1 はじめに

私達の体の中では、約 60 兆個もの細胞が互いに連絡を取り合い、情報を交換し合うことで私達の生命活動を支えている。その中でも近年、様々な細胞がエクソソームと呼ばれる直径 30-100 nm の小型膜小胞を放出することにより、情報を伝達する可能性が注目されている。エクソソームは脂質二重膜で囲まれた膜小胞で、多胞性エンドソームと呼ばれる細胞内小胞の中で産生され、多胞性エンドソームが細胞膜と融合することにより細胞外へと放出される (図 1)。エクソソームには、エンドソーム由来の蛋白質 (ESCRTs や TSG101 など) や細胞内輸送に関与する蛋白質 (Rab GTPase など)、細胞膜由来の蛋白質 (CD63, CD81 など) をはじめ様々な分泌細胞由来の蛋白質が含まれているとともに、分泌細胞の細胞膜やエンドソーム膜由来の脂質 (コレステロールやスフィンゴミエリンなど) が含まれている¹⁾。長年エクソソームはこれらの細胞内成分を不要物として細胞外へと放出する為の機構として考えられてきたが、近年、分泌細胞と標的細胞との間で様々な蛋白質や脂質を交換する重要な媒体であることが明らかとなっている。特に、免疫細胞由来のエクソソームには抗原ペプチド/MHC 複合体や様々な抗原が含まれていることが示されており、免疫細胞間での抗原情報の交換や、免疫細胞の活性化・不活性化など様々な免疫応答を制御する可能性が示されている (図 1)。更に、エクソソーム内には、分泌細胞由来の mRNA や miRNA が存在することが明らかとなり、細胞間における遺伝子発現情報の伝播や制御に関与する可能性が注目されている。そこで本稿では、免疫系におけるエクソソームの役割に焦点を当て、これまでの知見と今後の将来展望を説明する。

2 抗原提示におけるエクソソームの役割

免疫系において最も活発にエクソソームを分泌している細胞は樹状細胞である。樹状細胞は抗原提示細胞の一種で、体内に侵入してきた細菌などの異物をファゴソームに取り込み、抗原ペプチドまで断片化した後、MHC クラス II 分子に載せ細胞表面上に提示することで T 細胞を活性化させる細胞である。一方、細胞内の抗原ペプチドは MHC クラス I 分子により提示されるが、樹状細胞が分泌するエクソソームには MHC クラス I、クラス II 双方が載っており (図 2)、それぞれ抗原特異的な CD8⁺ 細胞傷害性 T 細胞や CD4⁺ ヘルパー T 細胞の T 細胞受容体と結合することにより、樹状細胞から離れた場所においても T 細胞を活性化することが可能である。しかし、エクソソーム表面には、T 細胞の活性化に重要な共刺激分子の発現が樹状細胞表面と比べて低いため、樹状細胞が直接 T 細胞に接して活性化する場合に比べ、活性化能が 5-10% 程と低くなっている。また、エクソソームは抗原ペプチド/MHC 複合体を運ぶことにより、このような直接的な抗原提示機能を担うだけではなく、他の抗原提示細胞にエクソソームが取り込まれることにより、その細胞内の MHC 分子へと抗原を受け渡し、間接的に抗原提示を促進することも可能である²⁾。

更にエクソソームは、抗原ペプチド/MHC 複合体以外にも、分泌細胞由来の様々な抗原を含んでおり、抗原提示細胞へと運搬することが明らかになっている (図 2)。例えば、癌細胞由来エクソソームには、癌細胞由来の様々な蛋白質が含まれており、これが樹状細胞に取り込まれ、抗原蛋白質の分解と MHC クラス I 分子へのクロスプレゼンテーションにより、癌細胞特異的な細胞傷害性 T 細胞の活性化を引き

起こす³⁾。この機構を応用することにより、癌細胞由来エクソソームを用いた抗腫瘍免疫療法の開発が期待されている。一方、マクロファージなど貪食細胞由来のエクソソームには、その細胞が貪食した細菌由来の抗原が含まれており、エクソソームを介してその抗原をより強い抗原提示能を持つ樹状細胞へと受け渡すことで、T 細胞の効率的な活性化を促進することが可能である⁴⁾。この機序を用いて効果的なワクチンの開発が期待されている。

3 エクソソームによる RNA の伝播

エクソソームには蛋白質抗原のみならず、分泌細胞由来の mRNA や non-coding RNA (特に miRNA) が含まれており、その機能が注目されている⁵⁾。これらの RNA はエクソソームの脂質二重膜に守られている為、RNase により分解されず、血中や体液中で安定なまま存在している。エクソソームとその分泌細胞のどちらにも検出される RNA がある一方で、どちらかのみしか検出できない RNA も存在しており、特定の RNA をエクソソームへ選択的に取り込むメカニズムが存在すると想定されている。標的細胞に取り込まれたエクソソームは、エンドソーム膜と融合することにより、中に抱え込んでいた RNA を標的細胞の細胞質へと放出する (図 1)。放出された mRNA は蛋白質に翻訳される一方、miRNA は標的遺伝子の翻訳を抑制することで、エクソソームは標的細胞内での遺伝子発現を制御することが示されている。免疫系においてこの機構は、外敵に遭遇した免疫細胞が未遭遇の細胞に対して自身の活性化状態を、RNA を介して水平伝播させることにより、両者が一丸となって外敵に対抗する手段として用いられると想定されている。

4 エクソソームによる免疫応答の制御

エクソソームには様々な免疫関連分子が載っており、これらの分子を介して免疫応答を制御することが明らかとなっている。例えば、細胞傷害性T細胞やナチュラルキラー細胞由来のエクソソーム上には、Fas リガンドや TRAIL、CD40 リガンドなどの TNF ファミリー蛋白質が載っており、標的細胞にアポトーシスを誘導する⁶⁾ (図2)。同様に癌細胞の中には、Fas リガンドや TRAIL などを載せたエクソソームを放出するものがあり、免疫細胞にアポトーシスを誘導して、免疫からの攻撃を逃れることが報告されている⁷⁾。一般に TNF ファミリー蛋白質は膜結合型として産生され、膜型メタロプロテアーゼに切断されて可溶性へと変化する。アポトーシス誘導活性は主に膜結合型が担い、可溶性の活性は弱いことが知られている⁸⁾。エクソソーム上の TNF ファミリー蛋白質は、膜型メタロプロテアーゼによる切断を受けずに安定であるとともに、膜を介して三量体を形成することで、強いアポトーシス誘導活性を有している。更に、エクソソームによる TNF ファミリー蛋白質の運搬は、様々な炎症疾患や自己免疫疾患の発症にも関与していると考えられている。例えば、関節リウマチ患者の滑膜繊維芽細胞から放出されるエクソソームには、膜結合型の TNF- α が高濃度に集積しており、関節リウマチの病態を増悪させている⁹⁾。

また、癌細胞由来エクソソームには、免疫細胞にアポトーシスを誘導する以外にも、様々な免疫抑制効果があることが報告されている。例えば、エクソソームがナチュラルキラー細胞に作用すると、癌細胞の認識機構を担う NKG2D レセプターの発現を抑制して癌細胞傷害性を低下させる¹⁰⁾。一方、癌細胞由来エクソソームが単球に取り

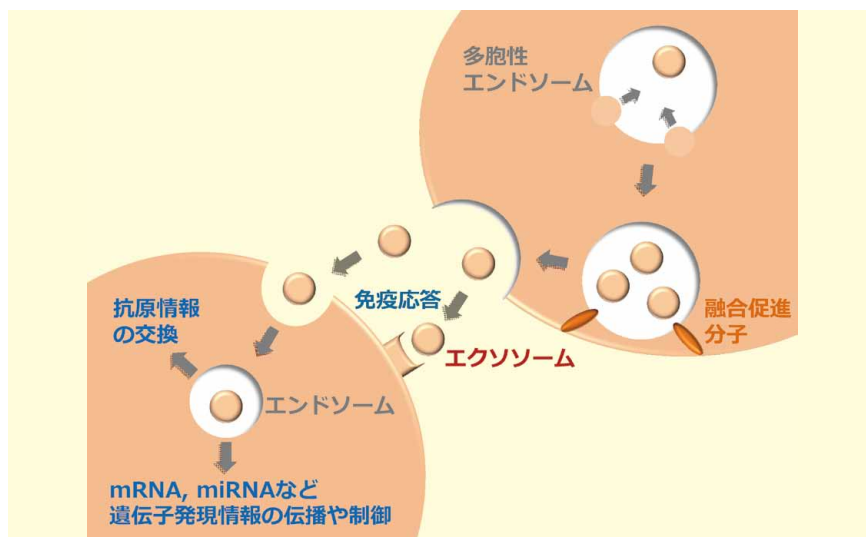


図1. 免疫系におけるエクソソームの役割

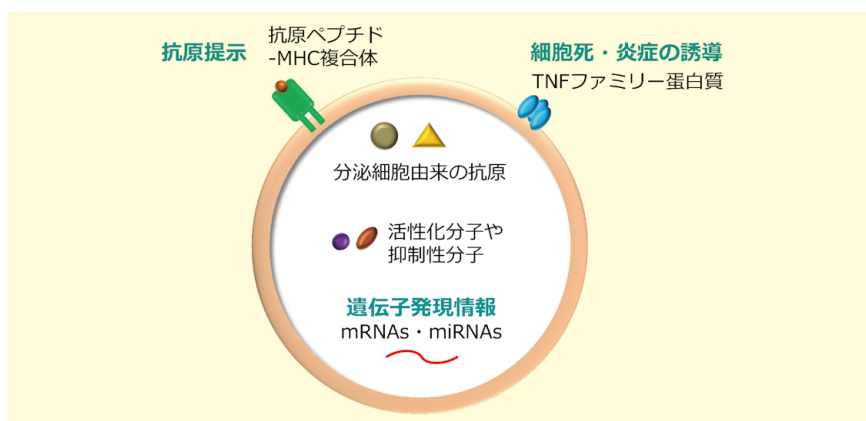


図2. 免疫系エクソソームの構成分子

込まれると、エクソソーム内に含まれる TGF- β やプロスタグランジン E2 などの作用により、単球を骨髄由来免疫抑制細胞へと分化誘導する¹¹⁾。この細胞は、IL-10 など様々な免疫抑制分子を放出し、免疫担当細胞の不活化や、制御性 T 細胞の誘導を促進して抗腫瘍免疫を抑制することが知られている。これらの機序を介して、癌細胞は自らを攻撃する免疫細胞の機能を抑制し、癌の進展を促進すると考えられている。

5 おわりに

本稿では、免疫系におけるエクソ

ソームの機能について焦点を当てたが、エクソソームは神経系や内分泌系など様々な種類の細胞から放出され、蛋白質や脂質、mRNA、miRNAなどを運ぶことにより、種々の生理現象や病態の発症に関与することが示唆されている。また、エクソソームは加齢とともに顕著に増加することが知られており、加齢に伴う組織の退縮にも関与すると考えられている。本稿では免疫系での機能として、抗原提示や炎症疾患・自己免疫疾患、癌の進展におけるエクソソームの役割についてこれまでの知見を記載したが、そもそもこれらの現象の根拠となっている実験では、培養細胞上清などから精製し濃縮され

たエクソソームが用いられており、このような現象が生体内で本当に起きているのかは実のところ未だに確かではない。エクソソームの生理作用を明らかにする唯一の方法は、エクソソームの放出機構を明らかにし、それを亢進または阻害することによって、どのような生理現象が引き起こされるのかを解明することであり、更なる研究の発展が期待される。

また、これまでエクソソームを精製する方法として、PEG沈殿法を利用した市販キットや超遠心法が主に用いられてきたが、これらの方法では非常に多くの夾雑物が混入しており、実験結果が本当にエクソソームの構成分子による作用であるかどうかは確かではない。幸いにも今回、和光純薬が開発した新たな精製キット（コードNo. 293-77601）は、従来とは異なる精製

機序により圧倒的に高純度なエクソソームをインタクトな状態で精製することが可能であり、エクソソーム本来の生理機能を解明するのに大きく貢献すると期待している。

最後に、免疫系におけるエクソソームの機能が明らかになるとともに、エクソソームを用いた新たな治療法の開発が期待されている。例えば、本稿で述べた癌細胞由来エクソソームの機能を阻害することにより、抗腫瘍免疫の効果を高めることが可能になるであろう。または、癌患者の血液から癌細胞由来エクソソーム取り除くことが有効な治療法になるかもしれない。逆に、樹状細胞などの機能を操作することにより、免疫抑制性エクソソームの産生を促し、炎症疾患や自己免疫疾患の治療に用いることも可能となるかもしれない。今後の研究の発展により、エク

ソソームの機能解明と臨床応用への適応を拡大し、様々な疾患の治療にエクソソームを用いることができると期待される。

【参考文献】

- 1) Colombo, M. et al. : *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **30**, 255 (2014).
- 2) Montecalvo, A. et al. : *J. Immunol.*, **180**, 3081 (2008).
- 3) Wolfers, J. et al. : *Nat. Med.*, **7**, 297 (2001).
- 4) Giri, P. K. and J. S. Schorey : *PLoS One*, **3** (6), e2461 (2008).
- 5) Valadi, H. et al. : *Nat. Cell Biol.*, **9**, 654 (2007).
- 6) Monleon, I. et al. : *J. Immunol.*, **167**, 6736 (2001).
- 7) Andreola, G. et al. : *J. Exp. Med.*, **195**, 1303 (2002).
- 8) Tanaka, M. et al. : *Nat. Med.*, **4**, 31 (1998).
- 9) Zhang, H. G. et al. : *J. Immunol.*, **176**, 7385 (2006).
- 10) Taylor, D. D. et al. : *Clin. Cancer Res.*, **9**, 5113 (2003).
- 11) Valenti, R. et al. : *Cancer Res.*, **66**, 9290 (2006).

新規アフィニティー法によるエクソソーム単離キット



MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS

本キットは、細胞培養上清や血清などのサンプルから高純度なエクソソームを抗体を使用しないアフィニティー法によって簡便に単離することができます。

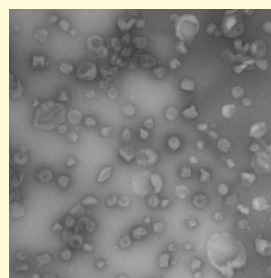
キット内容

- Streptavidin Magnetic Beads 600 μ l \times 1
- Biotin-labeled Exosome Capture 100 μ l \times 1
- Exosome Capture Immobilizing Buffer ... 35ml \times 1
- Exosome Binding Enhancer (\times 500) 500 μ l \times 1
- Washing Buffer 75ml \times 2
- Exosome Elution Buffer 5ml \times 1
- Reaction Tubes 22 本

データ

電子顕微鏡解析結果

新規アフィニティー法(本キット)



K562 細胞培養上清サンプルから回収したエクソソーム画分 (1.4×10^{10} 粒子)
(データご提供: 金沢大学医学系免疫学 華山教授、大阪大学免疫学フロンティア研究センター 中井先生)

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
293-77601	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	遺伝子研究用	10回用	80,000

※キット性能データと共に本品の紹介を最終ページ p.28 に掲載しています。是非、ご覧下さい。

☞ 2 ~ 10℃保存 ☞ 20℃保存 ☞ 80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

はじめに

医薬品が上市されるまでには、通常、動物を用いた前臨床試験において十分な有効性と安全性を確認したのち、臨床試験で人における有効性・安全性が確認される。さらに、上市後においても引き続き副作用について調査・監視が行われる（市販後調査）。前臨床試験や臨床試験そして市販後調査により見出される薬物毒性の多くは、本質性薬物毒性と呼ばれ、薬物の薬理作用から予測が可能で、薬物の用量に依存することから、適切な用法・用量を遵守することにより副作用の回避は可能である¹⁾。しかし、上市後に5,000～10,000人に1人、あるいはそれ以下の頻度で、それまで見られなかった重篤な肝毒性やアレルギー反応などの死亡例を伴う薬物毒性を発現することがある。この薬物毒性は、特異体質性薬物毒性（IDT：Idiosyncratic drug toxicity）と呼ばれる。IDTは、①発現頻度が低い、②用量に依存しない、③発現までに服用後数週間かかることが多い、④予測が極めて困難である、といった特徴を持つ^{1,2)}。これまでにIDTが原因で市場から撤退した

医薬品や、米国の添付文書で重大な注意事項を示す黒枠警告（Black box warning）を受けた医薬品が多数報告されている³⁾。この様な医薬品は服用していた患者さんにとっても不利益となるが、多大なる時間と費用をかけて開発した企業にとっても大きなダメージとなる。

IDTの発現メカニズムは未解明な部分も多いが、薬物に起因する要因、薬物代謝や解毒に関与する遺伝的要因、食事・飲酒・喫煙および疾患などの環境要因が複雑に重なり合って発現すると考えられている（図1）²⁾。体内に吸収された薬物は通常、肝臓などで代謝を受けて水溶性の高い代謝物へ変換されたのち、体外へ排泄される。しかし、医薬品の化学構造によっては、化学反応性に富んだ代謝物（反応性代謝物）が生成することもあり、生成した反応性代謝物が生体内のタンパク質などに共有結合することがIDTの引き金になっていると考えられている（図2）。

造からある程度の予測が可能である。代表的な例としては、キノン、エポキシド、マイケルアクセプター、イミニウムイオン、アルデヒドなどが知られている（表1）。生体内で生成した反応性代謝物はメチオン残基のチオール基やリジン残基のアミノ基などと結合し、IDTの引き金となると考えられている。全ての医薬品においてこのような危険な構造を持たないことが理想的ではあるが、実際には、薬効や薬物動態などの関係から危険構造を避けられないことが多い。その場合には、医薬品候補化合物が実際に代謝されて反応性代謝物を生成するか否かを確認する必要がある。

これまでに、IDTを示す医薬品とそうでない医薬品を区別する方法として、肝細胞や肝ミクロソームへの共有結合量と医薬品の一日用量を加味したリスク評価法が報告されている⁴⁻⁶⁾。しかし、共有結合量の測定には医薬品の放射性標識体が必要となる。これらの評価法は医薬品候補化合物が決まっている段階では非常に有用ではあるが、創薬の初期段階においては、全ての化合物について放射性標識体を合成することは時間的にもコスト的にも非現実的である。

反応性代謝物

反応性代謝物は薬物の酸化あるいは抱合反応により生成され、化合物の構

トラッピング試験

反応性代謝物が生成するか否かを簡単に調査するための方法として、ト

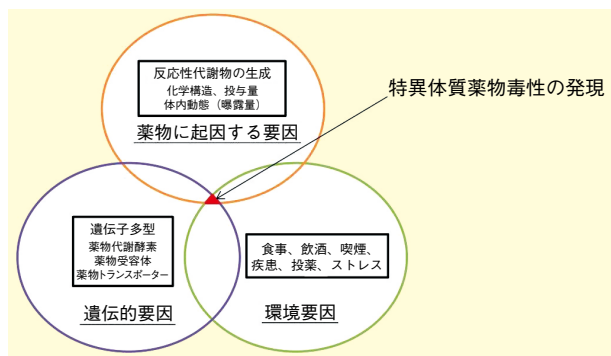


図1. 特異体質薬物毒性の発現要因²⁾



図2. 反応性代謝物の生成とIDTの発現

表1. 反応性代謝物の種類とトラッピング試薬

反応性の高い構造	トラッピング試薬
Quinones, Epoxides, S-Oxides, Michael acceptors, Nitroso compounds, etc...	GSH/GSH derivatives Cysteine/Cysteine derivatives
Iminium ions	γ-Glutamylcysteinylsine KCN/KCN derivatives
Aldehydes	Semicarbazide/Semicarbazide derivatives Methoxylamine

ラッピング試験が知られている。トラッピング試験では定量的な評価は出来ないが、創薬初期における定性的評価には非常に有用である。一般的には動物や人の肝臓から調製した代謝酵素を多く含むマイクロソーム画分を酵素源とし、医薬品候補化合物とトラッピング試薬共存下でインキュベーションすることにより、生成した反応性代謝物を反応性代謝物-トラッピング試薬付加体として安定的な形で捕捉し、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) などの機器で測定・解析することによりその存在を確認する。トラッピング試薬によって補足できる反応性代謝物が異なり、キノンやエポキシド、マイケルアクセプターなどはグルタチオン (GSH) やシステインが用いられ、イミニウムイオンにはシアン化カリウムなど、アルデヒドにはセミカルバジドなどが用いられる (表1)。最も一般的に使用されるのは GSH であるが、反応性代謝物-GSH 付加体は検出感度が低く (低感度)、GSH 付加体でないものもピークとして検出することもあるため (低選択性)、間違った結果を導くことが懸念される⁷⁾。そこで、GSH の欠点を克服すべく、これまでに数多くのトラッピング試薬が開発されてきた。グルタチオンエチルエステル体 (GSHEE) はグリシン部位がエチルエステル化されており、その脂溶性の向上により検出感度が向上すると報告されている⁸⁾。また、グルタチオン安定同位体置換体 ($^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH) は非標識の GSH と 1:1 のモル比で混合して使用することにより、LC-MS において特徴的な 2 重線として検出可能で、非常に選択性の高い試薬である⁹⁾。ビスメチルグルタチオン安定同位体置換体 (bisMeGSH- d_6) はグリシン部位とグルタミン酸部位がメチルエステル化されており、脂溶性の向上並びに安定同位体の利用により高感度・高選択性を持たせた試薬である (図3)¹⁰⁾。しかし、bisMeGSH- d_6 の感度向

上はトラッピングされた反応性代謝物の種類により大きく異なり、極端な例では通常の GSH よりも感度が低いことが報告されている。これはグルタミン酸のカルボン酸が GSH 抱合反応を触媒するグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) の反応に必要な部位であり、この部位がメチルエステル化されているため GST に認識されず、GSH 抱合が化学的な反応に限定されていることが原因と考えられている¹⁰⁾。

新規トラッピング試薬 GSHEE- d_5 ¹¹⁾

筆者は新規なトラッピング試薬であるグルタチオンエチルエステル安定同位体置換体 (GSHEE- d_5) を考案し、その検出力について従来の試薬と比較した。GSHEE- d_5 は脂溶性の向上による感度の向上と安定同位体の利用による選択性の向上、さらにグルタミン酸のカルボン酸はエステル化されていないため GST にも認識されると期待された。

はじめに、陽性対照としてジクロロフェナクを用いて、検出できる反応性代謝物の種類、検出感度について、 $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH との比較試験を行った。酵素源としてヒト肝マイクロソームを使用し、トラッピング試薬として GSHEE- d_5 を用いたとき、反応性代謝

物-トラッピング試薬付加体を 2 種類 (DIC-1, DIC-2)、選択的に検出した。これらの構造を MS/MS 解析した結果、 $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH と同様の付加体であることが確認された。さらに、検出したピーク強度を比較すると GSHEE- d_5 の方が 4 倍高く、 $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH よりも高感度であることが示された。これは、脂溶性の向上により、固相抽出の回収率が 1.5 倍、MS の検出感度が 2~3 倍向上したことによる。

次に、陽性対照としてジクロロフェナクに加え、アセトアミノフェン、クロザピン、チエニル酸、イミプラミン、トロパフロキサシン、メフェナム酸を、陰性対照としてテストステロン、ミダゾラム、テルフェナジンをういて検出力を比較した。GSHEE- d_5 を用いたとき、全ての陽性対照において少なくとも 1 つ以上の付加体を検出した。また、全ての陰性対照においては付加体を検出できなかった。陽性対照群で検出された付加体の構造は、陽性対照とした医薬品の構造から予測される付加体構造と一致し、選択的に検出できたことが示された。一方、 $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH を用いた場合、陰性対照群においてピークを検出する程に検出感度を高めた場合でも、3 つの陽性対照について付加体の検出ができなかった。従って、GSHEE- d_5 は従来の $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]GSH と比較して高感度・選択的であり、検出力に優れていることが示された (表2)。

さらに、GSHEE および bisMeGSH- d_6 との比較試験を実施した。酵素源としてラット肝マイクロソームを使用し、各トラッピング試験を実施した結果、GSHEE- d_5 では検出できた付加体が GSHEE ではジクロロフェナクとチエニル酸の、bisMeGSH- d_6 ではチエニル酸の付加体を検出できなかった (表3)。GSHEE- d_5 が GSHEE より検出力に優れていたのは、安定同位体による選択性の向上によるものと考えられた。bisMeGSH- d_6 は脂溶性の向上と

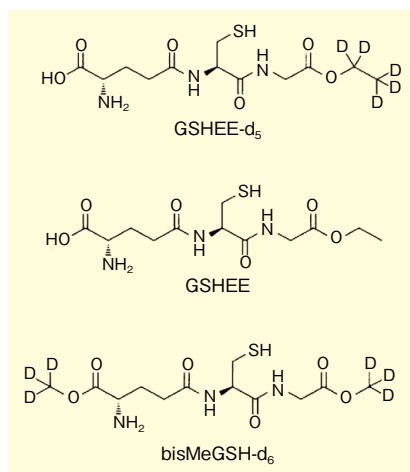


図3. 各トラッピング試薬の化学構造

表2. GSHEE-d₅ アッセイおよび [¹³C₂, ¹⁵N] GSH アッセイで検出した付加体

陽性対照			
Test drugs	GSHEE-d ₅ assay	[¹³ C ₂ , ¹⁵ N] GSH assay	
Acetaminophen	AAP-1	√	—
Diclofenac	DIC-1	√	√
	DIC-2	√	√
Clozapine	CLZ-1	√	√
	CLZ-2	√	√
	CLZ-3	√	√
	CLZ-4	—	√
Tienilic acid	TIE-1	√	—
	TIE-2	√	—
Imipramine	IMI-1	√	√
Trovaflaxacin	TVF-1	√	—
Mefenamic acid	MEF-1	√	—
	MEF-2	√	√
	MEF-3	√	√

陰性対照			
Test drugs	GSHEE-d ₅ assay	[¹³ C ₂ , ¹⁵ N] GSH assay	
Testosterone	—	—	—
Midazolam	—	—	—
Terfenadine	—	—	false positive

√ : detected, — : not detected

安定同位体の利用により、検出力に優れた試薬であると報告されているが、前述したように、GST への認識性に懸念があると考えられている。そこで筆者は GSH、GSHEE、bisMeGSH の GST への認識性を確認した。GSH の認識性を 100% としたとき、bisMeGSH はほとんど認識されないのに対し、GSHEE では中程度に認識された (図4)。従って、bisMeGSH のトラッピング試験においては、GST はほとんど活用されず、化学的な反応のみを検出していることが示された。薬毒性肝毒性と GST の遺伝多型との間には相関があるという報告もあり^{12, 13)}、GST は毒性回避に重要な役割を果たしていると考えられる。従って、使用される

表3. GSHEE アッセイと bisMeGSH-d₆ アッセイとの比較

Test drugs		GSHEE-d ₅ assay	GSHEE assay	bisMeGSH-d ₆ assay
Acetaminophen	AAP-1	√	√	√
Diclofenac	DIC-1	√	—	√
	DIC-2	√	√	√
Clozapine	CLZ-1	—	—	—
	CLZ-2	√	√	√
	CLZ-3	√	√	√
	CLZ-4	—	—	—
Tienilic acid	TIE-1	√	—	—
	TIE-2	—	—	—

√ : detected, — : not detected

トラッピング試薬としては GST に認識されるものが望ましく、GSHEE-d₅ は従来の bisMeGSH-d₆ より有用なトラッピング試薬であると考えられた。

おわりに

以上述べてきたように、新規反応性代謝物トラッピング試薬 GSHEE-d₅ は従来の試薬と比べて高感度・高選択的であり、より優れた試薬であることが明らかとなった。本試薬については、和光純薬工業の協力で「反応性代謝物検出キット XenoScreen™ GSH-EE」として発売されている。このキットはトラッピング試験に必要な buffer 類とトラッピング試薬 (非標識体と 1:1 のモル比で混合済み) がチューブに小分け済みになっており、面倒な試薬類の秤量や調製が不要なため、より迅速なアッセイが可能である。本キットの使用により、より安全性の高い医薬品が上市されることを望む。

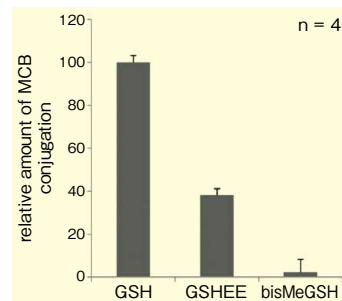


図4. GST を介した抱合反応における GSH、GSHEE、bisMeGSH のコファクターとしての認識性

【参考文献】

- Ikeda, T. : *Yakugaku Zasshi*, **135**, 567 (2015).
- Yamada, H., Yamaguchi, J., Iida, I. and Okuyama, S. : *Folia Pharmacol. Jpn.*, **127**, 473 (2006).
- Kalgutkar, A. S. and Dalvie, D. : *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **55**, 35 (2015).
- Nakayama, S. et al. *Drug Metab. Dispos.*, **37**, 1970 (2009).
- Obach, R. S., Kalgutkar, A. S., Soglia, J. R. and Zhao, S. X. : *Chem. Res. Toxicol.*, **21**, 1814 (2008).
- Usui, T., Mise, M., Hashizume, T., Yabuki, M. and Komuro, S. *Drug Metab. Dispos.*, **37**, 2383 (2009).
- Yan, Z. and Caldwell, G. W. : *Anal. Chem.*, **76**, 6835 (2004).
- Soglia, J. R. et al. : *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**, 105 (2004).
- Ma, L., Wen, B., Ruan, Q. and Zhu, M. : *Chem. Res. Toxicol.*, **21**, 1477 (2008).
- Defoy, D., Dansette, P. M., Neugebauer, W., Wagner, J. R. and Klarskov, K. : *Chem. Res. Toxicol.*, **24**, 412 (2011).
- Yamaoka, T. and Kitamura, Y. : *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **76**, 83 (2015).
- Buchard, A. et al. : *Clin. Toxicol.*, **50**, 27 (2012).
- Lucena, M. I. et al. : *Hepatology*, **48**, 588 (2008).

反応性代謝物検出試薬

ゼノスクリーン™ GSH-EE (チューブタイプ)



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
244-00961	XenoScreen™ GSH-EE (Tube type)	☑ [○] 薬物動態研究用	12 本	24,000

☑ 関連商品の前処理用固相抽出カラム 96 well プレート「Presep® XenoScreen™ 96 well Plate」は p. 13 をご覧下さい。

☑ 2 ~ 10°C 保存 ☑ 20°C 保存 ☑ 80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016 年 1 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

はじめに

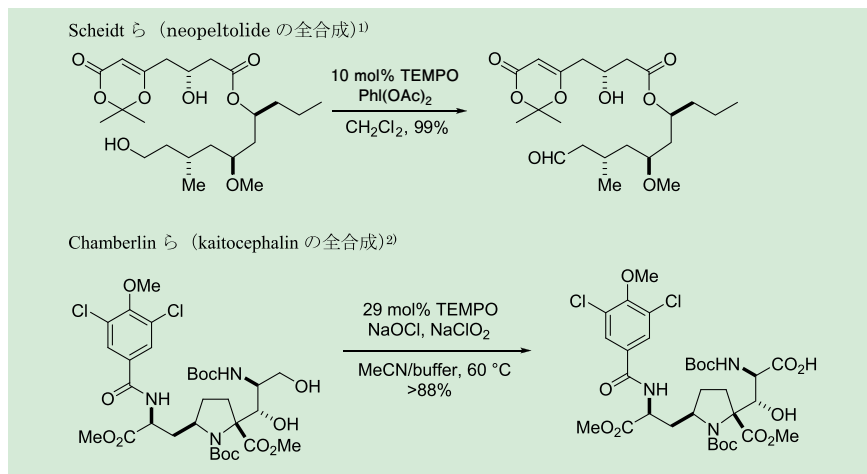
有機ニトロキシラジカル TEMPO を触媒とするアルコールの酸化反応では、基質中に第1級アルコールと第2級アルコールが共存する場合、第1級アルコールが選択的に酸化されることが知られている。高度に酸素官能基化された天然物や生物活性化合物の合成では、しばしば複数の水酸基を持つ基質の特定の水酸基のみを選択的に変換する必要がある。このような場合、通常保護基を用いて目的以外の水酸基をマスクすることで、目的水酸基のみを選択的に変換する。しかしながら、多数の官能基を持つ複雑な化合物を合成する場合、保護基の化学のみではしばしば所望の選択的変換を実現することが困難となる。また、保護基の使用は、保護・脱保護の工程が必要となるため工程数の増加や収率低下を招く原因ともなる。TEMPO (1) による第1級アルコール選択的酸化反応は、複数の水酸基の差別化法として近年、有機合成において広く用いられ、このような問題の有力な解決法となっている (Scheme 1)。その一方で、第1級アルコール選択的酸化反応は、TEMPO 酸化のみといっても良い状況であるため、TEMPO 酸化で目的の変換が効率的に進行しない場合は、合成戦略の変更を余儀なくされる。従って、そのような場合に TEMPO (1) の代替となる触媒が開発できれば、第1級アルコール選択的酸化反応による合成戦略をより確かなものとすることができる。私たちは、これまでアザアダマンタン型有機ニトロキシラジカル AZADO (2)、1-Me-AZADO (3) およびアザノルアダマンタン型有機ニトロキシラジカル Nor-AZADO (4) を始めとする高活性触媒の開発を行ってきた (Figure 1)³⁾⁻⁶⁾。これらの触媒は、ニトロキシラジカル α 位に水素原子を持つため TEMPO (1) に比べ触媒活

性部位近傍に広い反応場を持つ。そのため、TEMPO (1) ではほとんど反応が進行しない立体障害の大きい第2級アルコールの酸化も速やかに進行する。これらの触媒は天然物合成に広く適用されるようになってきた。Nicolaou らによる vannusal B の合成では、1-Me-AZADO (3) を用いたネオペンチル位の第1級アルコールに対する第2級アルコール共存下の選択的酸化反応が報告された (Scheme 2)⁷⁾。しかしながら、1-Me-AZADO (3) は、この例のように第2級アルコールも混み合った位置にある場合には効率的な選択的酸化反応が進行する一方で、立体障害の大きなアルコールに対しても高い触媒活性を示すために第1級アルコール選択的酸化反応に対しては十分な基質一般性を持たない。私たちは、この報告を受けネオペンチル位等の混み合った位

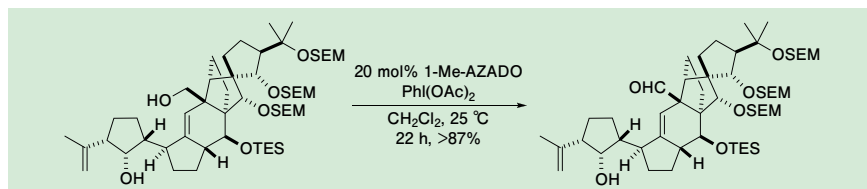
置の第1級アルコールに対しても有効な“高活性”第1級アルコール選択的酸化触媒の開発の必要性を痛感した。

高活性第1級アルコール選択的酸化触媒：DMN-AZADOの触媒設計⁸⁾

高活性第1級アルコール選択的酸化触媒の開発にあたり、以前の AZADO 開発研究の過程で触媒構造と活性の関係を明らかとするために行った AZADO (2)、1-Me-AZADO (3)、1,5-Dimethyl-AZADO (5) の活性評価の結果に立ち返った (Table 1)³⁾。AZADO (2) と 1-Me-AZADO (3) は、第1級アルコールとかさ高い第2級アルコールのいずれのアルコールでも酸化が進行するのに対して、1,5-Dimethyl-AZADO (5) は、TEMPO (1) と同様にかさ高い第2級アルコールの酸化



Scheme 1. TEMPO-catalyzed selective oxidation of primary alcohols



Scheme 2. Nicolaou's report on 1-Me-AZADO-catalyzed selective oxidation of the primary alcohol⁷⁾

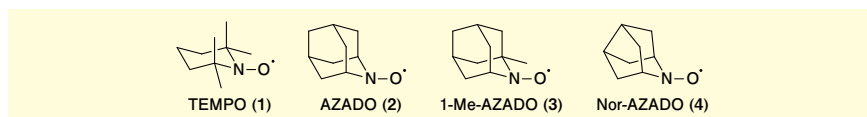


Figure 1. Structures of nitroxyl radicals

はほとんど進行せず第1級アルコールの酸化のみが進行した。この研究から、かさ高い第2級アルコールの酸化には、ニトロキシラジカル α 位に少なくとも1つ水素原子を持つことが重要であることがわかったが、当時、1,5-Dimethyl-AZADO (5) と TEMPO (1) との触媒活性の差についてはあまり注意を払っていなかった。そこで改めて、TEMPO (1) と 1,5-Dimethyl-AZADO (5) の構造を比較した (Figure 2)。TEMPO (1) と 1,5-Dimethyl-AZADO (5) は、いずれもニトロキシラジカル α 位に2つの四置換炭素を持ち、ニトロキシラジカル周辺の立体的環境は酷似している。しかし、TEMPO (1) はピペリジン環の反転を伴う分子振動によって α 位の4つのメチル基がより効果的に触媒活性部位を遮蔽している。これに対して 1,5-Dimethyl-AZADO (5) は、かご構造によってピペリジン環の反転をおこさない rigid な骨格を持つ。この分子振動による動的な分子構造の違いが、触媒活性に影響を与えるのではないかと考えた。さらに、Nor-AZADO (4) は、AZADO (2) に比べ1炭素分、環縮小した構造を持ち、これによってニトロキシラジカル部がより剥き出しになっているため、高い触媒活性を示すことがわかっている⁶⁾。従って、Nor-AZADO (4) のニトロキシラジカル α 位に2つのメチル基を導入した 1,5-Dimethyl-Nor-AZADO (DMN-AZADO, 6) は、1,5-Dimethyl-AZADO (5) に比べより高

い触媒活性が期待できる。このような考察によって、DMN-AZADO (6) の高活性第1級アルコール選択的酸化触媒としての高い可能性を見出すに至った。

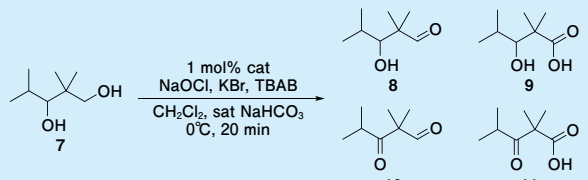
DMN-AZADO (6) の触媒活性評価

グルタリルクロリドより容易に調製可能な 2,6-ヘプタンジオンと、アセトンジカルボン酸と酢酸アンモニウムとの3成分縮合反応によって得られる 1,5-ジメチル-9-アザビシクロノナンから収率よく DMN-AZADO (6) を合成する手法を確立し、触媒活性の評価を行った。2,2,4-Trimethylpentane-1,3-diol (7) をモデル基質として、NaOCl を共酸化剤とする Anelliらの条件下に、TEMPO (1)、DMN-AZADO (6)、1-Me-AZADO (3) の触媒活性を比較した (Table 2)⁹⁾。添加する NaOCl 量を 1.1 当量から徐々に増やしていくと、TEMPO は、目的

のヒドロキシアルデヒド 8 の収率は 70% 台で頭打ちとなり、1-Me-AZADO (3) は、1.5 当量以上で2級アルコールが酸化された 10 および 11 の生成が顕著に増加した。これに対して、DMN-AZADO (6) は、安定して高収率で第1級アルコールが酸化された生成物が得られた。この結果は、1-Me-AZADO (3) でも第1級アルコール選択的酸化反応が進行することを示しているが、その場合、厳密な当量制限が必要となる。しかしながら、次亜塩素酸ナトリウム水溶液の有効塩素濃度は変化しやすく一定に保つのが難しいため、厳密な当量制限を必要としない DMN-AZADO (6) は再現性よく目的の第1級アルコール選択的酸化反応を進行させるために有用であるものと考えている。

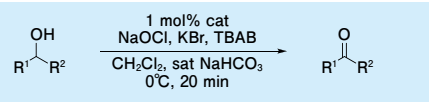
次に天然物合成への適用を想定したモデル基質としてベツリン (12) を選択し、PhI(OAc)₂ を共酸化剤として

Table 2. Catalytic efficiencies of TEMPO, DMN-AZADO, and 1-Me-AZADO for the selective oxidation of diol 7



NaOCl (equiv)	TEMPO (1)			DMN-AZADO (6)			1-Me-AZADO (3)		
	8	9	10+11	8	9	10+11	8	9	10+11
1.1	75	0	0	95	0	0	95	0	0
1.2	76	0	0	96	0	0	92	0	6
1.5	69	4	0	81	6	0	70	3	20
2.0	68	9	2	70	19	1	31	3	59

Table 1. Catalytic activities of AZADO, 1-Me-AZADO, 1,5-Dimethyl-AZADO and TEMPO



	AZADO (2)	1-Me-AZADO (3)	1,5-Dimethyl-AZADO (5)	TEMPO (1)
Ph-CH(OH)-CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	90%	91%	92%	90%
1,5-Dimethyl-2-cyclohexanol	94%	95%	trace	trace

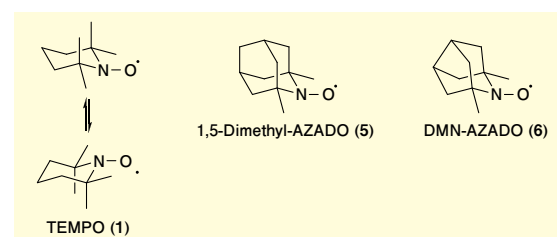


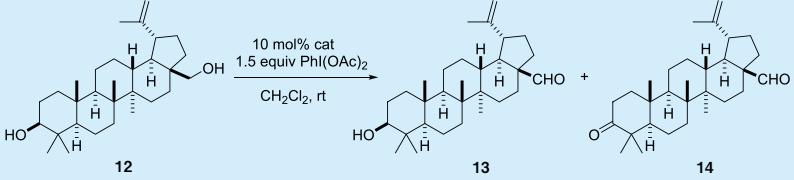
Figure 2. Structures of TEMPO, 1,5-Dimethyl-AZADO, and DMN-AZADO

第1級アルコール選択的酸化反応を検討した (Table 3)¹⁰⁾。ベツリンの第1級アルコールはネオペンチル位に位置するために TEMPO (1) を触媒とした場合は、目的のヒドロキシアルデヒド **13** は中程度の収率であった。1-Me-AZADO (3) を触媒とした場合は、2級アルコールの過剰酸化の抑制が難しく **13** の収率は中程度であった。これに対し、DMN-AZADO (6) を触媒とした場合は、高収率で目的生成物 **13** を与えた。触媒量は、2 mol% まで減じても反応は効率的に進行した。

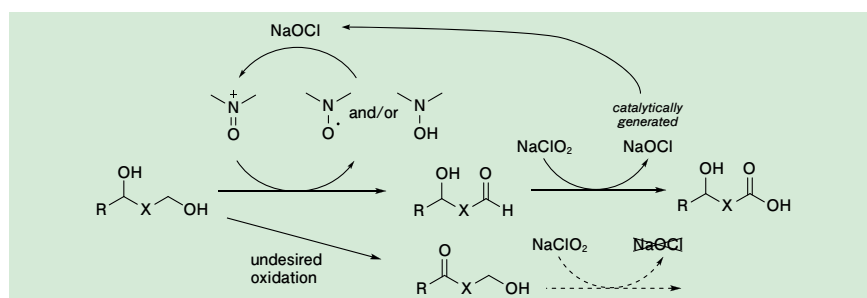
ジオールからヒドロキシルカルボン酸への第1級アルコール選択的酸化反応

メルク社の Zhao らによって開発された TEMPO、NaOCl (触媒量)、NaClO₂ を用いる酸化反応は、基質適用性に優れた手法として第1級アルコールからカルボン酸へのワンポット酸化反応に広く用いられている¹¹⁾。従って、第2級アルコール共存下の第1級アルコールからカルボン酸への酸化反応も、同様の手法の適用が望ましい。しかしながら、この手法は、第2級アルコール共存下に進行させようとした場合、極めて高い第1級アルコール選択性が要求される。それは、Scheme 3 に反応機構を示すようにアルデヒドの酸化によって触媒的に生成する NaOCl が触媒サイクル成立のために必須であることから、第2級アルコールの酸化が添加した NaOCl 量分進行すると反応は停止してしまうからである。実際モデル基質 **15** を用いた検討では、1-Me-AZADO (3) を触媒とすると第2級アルコールの酸化が進行し、反応が途中で停止してしまった (Table 4)。TEMPO (1) は、反応が遅く24時間後も中程度の収率であるのに対し、DMN-AZADO (6) は、短時間で反応が完結し高収率で目的生成物を与えた。

Table 3. Catalytic efficiencies of TEMPO, DMN-AZADO, and 1-Me-AZADO for the selective oxidation of betulin (**12**)

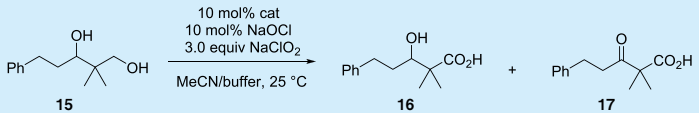


cat	time	yield(%)		
		13	14	12
TEMPO	2 h	56	0	26
1-Me-AZADO	15 min	49	51	0
DMN-AZADO	45 min	96	2	0
DMN-AZADO (2 mol%)	45 min	97	trace	0



Scheme 3. Catalytic pathway of the nitroxyl radical/NaOCl/NaClO₂ method

Table 4. Catalytic efficiencies of TEMPO, DMN-AZADO, and 1-Me-AZADO for the selective one-pot oxidation of diol **15**



cat	time	yield(%)		
		16	17	15
TEMPO	24 h	58	0	31
1-Me-AZADO	2 h	47	9	35
DMN-AZADO	1 h	90	0	0
DMN-AZADO (5 mol%)	3 h	91	0	0

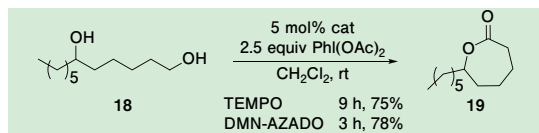
第1級アルコール選択的酸化反応による酸化的ラクトン化反応

TEMPO と PhI(OAc)₂ を用いる条件下では、第1級アルコール選択的酸化反応によるジオールからの酸化的ラクトン化反応が進行することが Forsyth らによって報告されている¹²⁾。最近、佐々木らによって、この酸化的ラクトン化反応は、中員環ラクトン合成にも有効であることも報告されてい

る¹³⁾。そこで、DMN-AZADO (6) の酸化的ラクトン化反応に対する触媒活性についても評価した、その結果、収率は TEMPO (1) と同程度であるものの、反応時間は3分の1以下に短縮された (Scheme 4)。

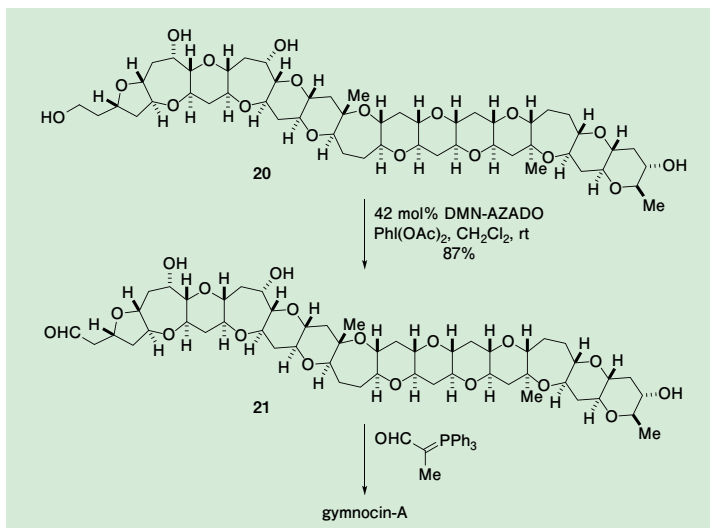
森らによる gymnocin-A 全合成への応用¹⁴⁾

ごく最近、森らによって強力な細胞毒性を有する海産ポリ環状エーテル gymnocin-A の全合成が達成され、そ



Scheme 4. Oxidative lactonization employing the selective oxidation

の合成の最終段階に於いてDMN-AZADO (6) による第1級アルコール選択的酸化反応が適用された (Scheme 5)。すなわち、gymnocin-A の持つ14環性ポリ環状エーテルを構築した後に、第1級アルコールと3つの第2級アルコールを持つテトラオール **20** を基質としたトリヒドロキシアルデヒド **21** への極めてチャレンジングな第1級アルコール選択的酸化反応がDMN-AZADO (6) を用いて達成された。



Scheme 5. Selective oxidation of the primary alcohol of tetraol (**20**) on the total synthesis of gymnocin-A

おわりに

DMN-AZADO (6) は、第1級アルコール選択的酸化反応をより強力な合成戦略とすると考えている。本触媒が、広く応用され無駄の無いより効率的な有機合成実現のための一助となることを願っている。本解説文では、紙面の都合上、基質一般性の詳細については省略したため、参考論文8を参照されたい。

【参考文献】

- Custar, D. W., Zabawa, T. P., Hines, J., Crews, C. M. and Scheidt, K. A. : *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 12406 (2009).
- Vaswani, R. G. and Chamberlin, A. R. : *J. Org. Chem.*, **73**, 1661 (2008).
- Shibuya, M., Tomizawa, M., Suzuki, I. and Iwabuchi, Y. : *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 8412 (2006).
- Shibuya, M., Sasano, Y., Tomizawa, M., Hamada, T., Kozawa, M., Nagahama, N. and Iwabuchi, Y. : *Synthesis*, **21**, 3418 (2011).
- Iwabuchi, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **61**, 1197 (2013).
- Hayashi, M., Sasano, Y., Nagasawa, S., Shibuya, M. and Iwabuchi, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 1570 (2011).
- Nicolaou, K. C., Ortiz, A. and Zhang, H. : *J. Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 5648 (2009).
- Doi, R., Shibuya, M., Murayama, T., Yamamoto, Y. and Iwabuchi, Y. : *J. Org. Chem.*, **80**, 401 (2015).
- Anelli, P. L., Biffi, C., Montanari, F. and Quici, S. : *J. Org. Chem.*, **52**, 2559 (1987).
- De Mico, A., Margarita, R., Parlanti, L., Vescovi, A. and Piancatelli, G. : *J. Org. Chem.*, **62**, 6974 (1997).
- Zhao, M., Li, J., Mano, E., Song, Z., Tschaen, D. M., Grabowski, E. J. J. and Reider, P. J. : *J. Org. Chem.*, **64**, 2564 (1999).
- Hansen, T. M., Florence, G. J., Lugo-Mas, P., Chen, J. H., Abrams, J. N. and Forsyth, C. J. : *Tetrahedron Lett.*, **44**, 57 (2003).
- Ebine, M., Suga, Y., Fuwa, H. and Sasaki, M. : *Org. Biomol. Chem.*, **8**, 39 (2010).
- Sakai, T., Matsushita, S., Arakawa, S., Mori, K., Tanimoto, M., Tokumasu, A., Yoshida, T. and Mori, Y. : *J. Am. Chem. Soc.*, **137** (45), 14513 (2015).

超高活性 第1級アルコール選択的酸化触媒



DMN-AZADO

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
048-33891	DMN-AZADO	有機合成用	100mg	11,000
044-33893			500mg	37,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
012-24981	nor-AZADO	有機合成用	100mg	12,000
018-24983			500mg	42,000
010-24921	AZADOL [®]	有機合成用	100mg	4,000
016-24923			1g	12,000
014-24924			5g	42,000
132-15261	1-Methyl-2-azaadamantane-N-oxyl 【1-Me-AZADO】	有機合成用	100mg	8,500
138-15263			500mg	29,000
209-19501	2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy, Radical 【TEMPO】	有機合成用	5g	6,700
207-19502			25g	20,000
205-19503			100g	65,000

AZADOL[®] は、日産化学工業株式会社の登録商標です。

Ref^o…2 ~ 10°C保存 [E]…20°C保存 [80]…80°C保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

品目追加



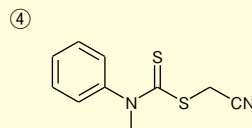
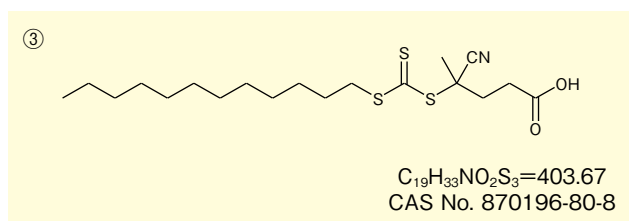
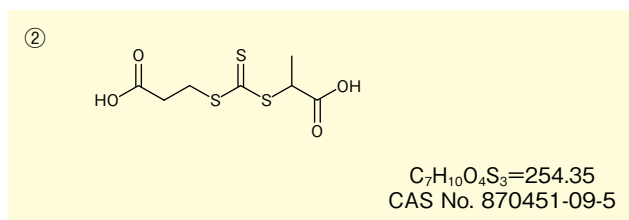
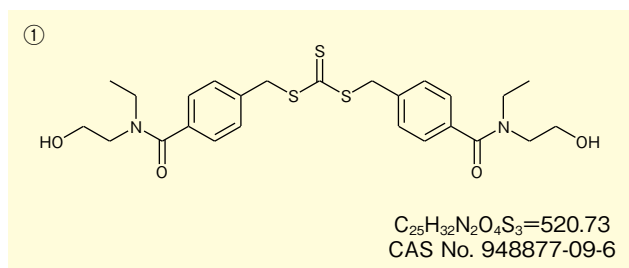
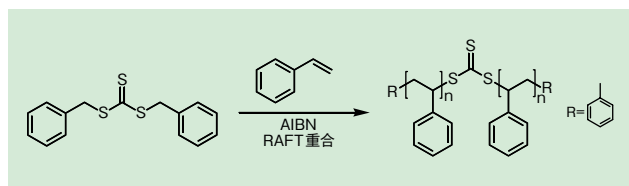
RAFT 剤

本品は、制御リビングラジカル重合手法の一つである RAFT 重合に用いられる連鎖移動剤です。分子量分布の範囲が狭いポリマーの合成に有効です。

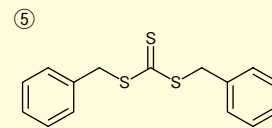
特長

- 分子量分布の範囲が狭いポリマーの合成が可能
- 系にハロゲン・重金属を含まない
- 適したRAFT剤（連鎖移動剤）を用いることで、広範囲のラジカル重合性モノマーの重合制御が可能
- 水やイオン性物質の影響を受けにくい重合系であるため、官能基をもつモノマーや水系での重合にも比較的容易に適用可能

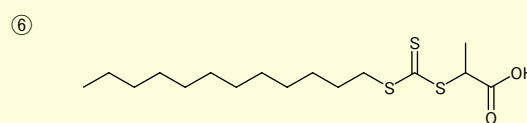
反応例¹⁾



$C_{10}H_{10}N_2S_2=222.33$
CAS No. 76926-16-4



$C_{15}H_{14}S_3=290.47$
CAS No. 26504-29-0



$C_{16}H_{30}O_2S_3=350.60$
CAS No. 558484-21-2

【参考文献】

- 1) Lefay, C. et al. : *Polymer Sci. Part A : Polymer Chemistry*, **49**, 803 (2011).

No.	コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
①	029-17961	Bis[4-[ethyl-(2-hydroxyethyl) carbamoyl]benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	5g	7,000
	027-17962			25g	16,000
②	037-24651	2-[(2-Carboxyethyl) sulfanylthiocarbonyl]sulfanyl] propanoic Acid	有機合成用	1g	11,000
	033-24653			5g	40,000
③	030-24641	4-Cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl) sulfanyl]pentanoic Acid <small>【圖-III】</small>	有機合成用	1g	17,000
	036-24643			5g	57,000
④	035-24691	Cyanomethyl <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -phenylthiocarbamate <small>【圖-III】</small>	有機合成用	1g	14,000
	031-24693			5g	51,000
⑤	047-33981	<i>S,S</i> -Dibenzyl Trithiocarbonate <small>Ref</small>	有機合成用	1g	14,000
	043-33983			5g	53,000
⑥	351-40781	2-[(Dodecylsulfanylthiocarbonyl) sulfanyl]propanoic Acid <small>Ref</small>	ワコーケミカル	1g	11,000
	357-40783			5g	40,000

関連商品

開始剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-19332	4,4'-Azobis(4-cyanovaleric Acid) [ACVA] <small>Ref</small>	和光一級	25g	4,000
010-19335			500g	14,000
014-11072	1,1'-Azobis(cyclohexane-1-carbonitrile) [ACHN] <small>Ref</small> <small>【圖-III】</small> <small>【図】</small>	和光一級	25g	2,100
018-11075			500g	8,900
019-04932	2,2'-Azobis(isobutyronitrile) [AIBN] <small>Ref</small> <small>【圖-III】</small> <small>【図】</small>	和光特級	25g	1,600
013-04935			500g	4,000
017-21332	2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) Dihydrochloride	和光一級	25g	1,550
011-21335	[AAPH]		500g	9,000

Ref…2～10℃保存 E…20℃保存 80…80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

容量追加

汎用塩基試薬



有機合成反応で汎用的に使用される塩基試薬の小包装(25ml)を追加しました。使用量が少ない場合にも便利な使い切りサイズです。

コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格(円)
NEW 059-05352	N-Ethyl-diisopropylamine 【DIPEA】	和光一級	25ml	2,000
051-05351			100ml	3,300
053-05355			500ml	12,000
NEW 164-05312	Pyridine	試薬特級	25ml	1,000
162-05313			100ml	1,250
166-05316			500ml	3,050
166-05311			3ℓ	13,000
164-05317			17kg	照会

関連商品は、当社 HP をご覧下さい。

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/chemical/hanyo-enki/index.htm>

プレートタイプの固相抽出カラム



プレセップ® RPP 96 ウェルプレート

本品は、スチレンジビニルベンゼン-ポリメタクリレート樹脂を充てんしたプレートタイプのカラムです。生体試料中の薬物分析や環境分析など幅広い分野で使用可能です。



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 299-35321	Presep® RPP 96well Plate (10mg/well)	試料前処理用	1個	35,000

関連商品

プレセップ® RPP シリーズのご紹介です。コマ型の C タイプ、シリンジ型も取扱っています。

コード No.	品名	充てん剤	規格	容量	希望納入価格(円)
297-41851	Presep®-C RPP (Short) 【カラム形状:コマ型】	190mg	試料前処理用	10個×5	39,000
293-41951	Presep®-C RPP (Long) 【カラム形状:コマ型】	360mg	試料前処理用	10個×3	30,500
294-36851	Presep® RPP 【カラム形状:シリンジ型】	60mg/3ml	試料前処理用	10個×5	27,000
290-36951		200mg/6ml	試料前処理用	10個×5	36,000
290-37051		500mg/6ml	試料前処理用	10個×5	39,000

GPC 用溶媒



1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール

ご好評頂いています GPC (ゲル浸透クロマトグラフィー) 溶媒シリーズにヘキサフルオロ IPA を追加しました。

GPC 用溶媒は、ポリマーの溶解・分析時の加熱による溶媒の着色が無いことを確認した溶媒で、安心して GPC 分析にご使用頂けます。加熱着色試験の他、水分、過酸化物質、不揮発物、不純物による屈折率の変化や紫外線吸収を保証しており、GPC の溶離液調製に最適です。

規格

試験項目	規格値
外観	無色透明の液体
密度 (20°C)	1.617-1.624g/ml
吸光度 (200nm)	0.05 以下
吸光度 (220nm)	0.03 以下
吸光度 (240nm)	0.02 以下
吸光度 (254 ~ 400nm)	0.01 以下
GPC 試験適合性	試験適合
水分	0.03% 以下
不揮発物	0.001% 以下
酸 (HF として)	0.001% 以下
過酸化物質 (H ₂ O ₂ として)	5ppm 以下
含量 (cGC)	99.5% 以上

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 082-10311	1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol	GPC用	100ml	20,000
NEW 084-10315			500ml	80,000

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
036-24481	Chloroform (Stabilizer:Ethanol) Ⅲ	GPC用	1ℓ	3,750
032-24483			3ℓ	9,700
033-24491	Chloroform, Amylene added Ⅲ	GPC用	1ℓ	3,800
039-24493			3ℓ	9,800
034-24541	1-Chloronaphthalene	GPC用	1ℓ	35,000
043-33841	o-Dichlorobenzene	GPC用	1ℓ	3,000
049-33843			3ℓ	8,000
045-33921	N,N-Dimethylacetamide	GPC用	1ℓ	8,000
041-33923			3ℓ	18,000
046-33831	N,N-Dimethylformamide	GPC用	1ℓ	4,400
042-33833			3ℓ	11,000
048-33911	Dimethyl Sulfoxide	GPC用	1ℓ	6,000
044-33913			3ℓ	14,000
134-18521	1-Methyl-2-pyrrolidone	GPC用	1ℓ	7,000
130-18523			3ℓ	16,000
205-20071	Tetrahydrofuran, Stabilizer Free	GPC用	1ℓ	6,300
201-20073			3ℓ	13,750
209-20091	Tetrahydrofuran, with Stabilizer	GPC用	1ℓ	6,400
205-20093			3ℓ	14,000
202-20101	1,2,4-Trichlorobenzene*)	GPC用	1ℓ	11,500
208-20103			3ℓ	27,000

* 法的規制はありませんが微量のPCBの存在があるため、「1,2,4-トリクロロベンゼン」を購入の際は試験・研究用に使用することを認める証が必要です。詳しくは当社代理店までお問合せ下さい。

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います。

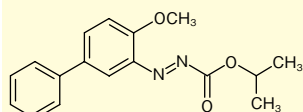
農薬標準品

■ ビフェナゼート代謝産物 B 標準品

化学名: Isopropyl (4-Methoxybiphenyl-3-yl) diazenylformate

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: 赤色、結晶性粉末~粉末



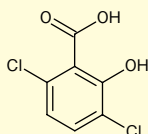
$C_{17}H_{18}N_2O_3=298.34$
CAS No. 149878-40-0

■ ジカンバ代謝産物 B 標準品

化学名: 3,6-Dichloro-2-hydroxybenzoic Acid

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: 白色、結晶性粉末~粉末



$C_7H_4Cl_2O_3=207.01$
CAS No. 3401-80-7

■ フルオメツロン標準品

化学名: 1,1-Dimethyl-3-(*α,α,α*-trifluoro-*m*-tolyl) urea

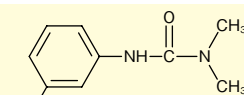
別 名: Cotoran

含量 (HPLC): 98.0% 以上

外 観: 白色、結晶性粉末~粉末

溶解性: 水 110mg/ℓ (20℃)。メタノール 110、アセトン 105、ジクロロメタン 23*n*-オクタノール 22、ヘキサン 0.17 (g/ℓ, 20℃)

備 考: 除草剤



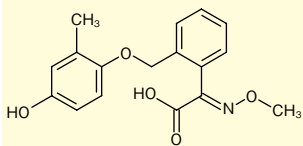
$C_{10}H_{11}F_3N_2O=232.20$
CAS No. 2164-17-2

■ クレソキシムメチル代謝産物 M9 標準品

化学名: 2-[2-(4-Hydroxy-2-methylphenoxy)methyl]phenyl]-2-methoxyiminoacetic Acid

含量 (qNMR): 97.0% 以上

外 観: 白色~わずかに褐色、粉末



$C_{17}H_{17}NO_5=315.32$
CAS No. 181373-11-5

■ フェンメディファム標準品

化学名: Methyl 3-(3-Methylcarbaniloyloxy) carbanilate

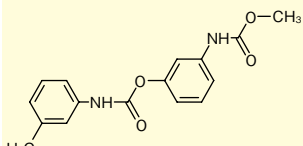
別 名: Beetup

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: 白色、結晶性粉末~粉末

溶解性: 水 4.7mg/ℓ (室温)、1.8mg/ℓ (pH 3.4, 20℃)。クロロホルム 20、ベンゼン 2.5、ジクロロメタン 16.7、酢酸エチル 56.3、2,2,4-トリメチルペンタン 1.16 (g/ℓ, 20℃)

備 考: 除草剤



$C_{16}H_{16}N_2O_4=300.31$
CAS No. 13684-63-4

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 029-18821	Bifenazate Metabolite B Standard [E]	残留農薬試験用	100mg	30,000
NEW 044-33991	Dicamba Metabolite B Standard [Ref]	残留農薬試験用	20mg	30,000
NEW 063-06571	Fluometuron Standard [Ref]	残留農薬試験用	100mg	12,000
NEW 110-01051	Kresoxim-methyl Metabolite M9 Standard [Ref]	残留農薬試験用	20mg	30,000
NEW 160-27431	Phenmedipham Standard [Ref]	残留農薬試験用	100mg	10,000

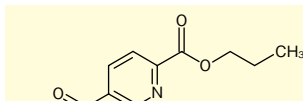
動物用医薬品標準品

■ イソシンコメロン酸ニプロピル標準品

化学名: Dipropyl 2,5-Pyridinedicarboxylate

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: 白色~わずかにうすい黄色、塊、または融解時、うすい黄色~黄色、澄明の液体



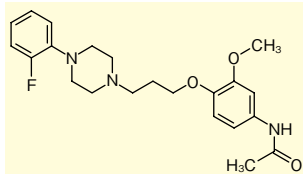
$C_{13}H_{17}NO_4=251.28$
CAS No. 136-45-8

■ マホプラジン標準品

化学名: *N*-[4-[3-[4-(2-Fluorophenyl)-1-piperazinyloxy]propoxy]-3-methoxyphenyl]acetamide

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: ごくうすい黄色~うすい黄褐色、結晶性粉末~粉末



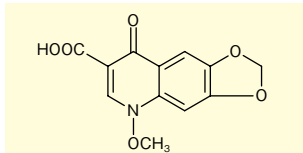
$C_{22}H_{28}FN_3O_3=401.47$
CAS No. 80428-29-1

■ ミロキサシン標準品

化学名: 5,8-Dihydro-5-methoxy-8-oxo-1,3-dioxolo[4,5-*g*]quinoline-7-carboxylic Acid

含量 (qNMR): 98.0% 以上

外 観: ほとんど白色~わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末



$C_{12}H_9NO_6=263.20$
CAS No. 37065-29-5

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 046-33951	Dipropyl Isocinchomeronate [Ref] [E]	高速液体クロマトグラフ用	100mg	7,000
NEW 130-18481	Mafoprozine Standard [Ref]	高速液体クロマトグラフ用	100mg	20,000
NEW 136-18461	Miloxacin Standard [Ref]	高速液体クロマトグラフ用	50mg	45,000

その他のポジティブリスト関連商品は下記よりご覧ください。

和光純薬試験薬 HP → カテゴリから選ぶ → 分析・環境 → 食品分析 → 01. 残留農薬・動物用医薬品 (ポジティブリスト制度)

Ref: 2 ~ 10℃ 保存 E: 20℃ 保存 80: 80℃ 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。

掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

初代神経細胞の培養に



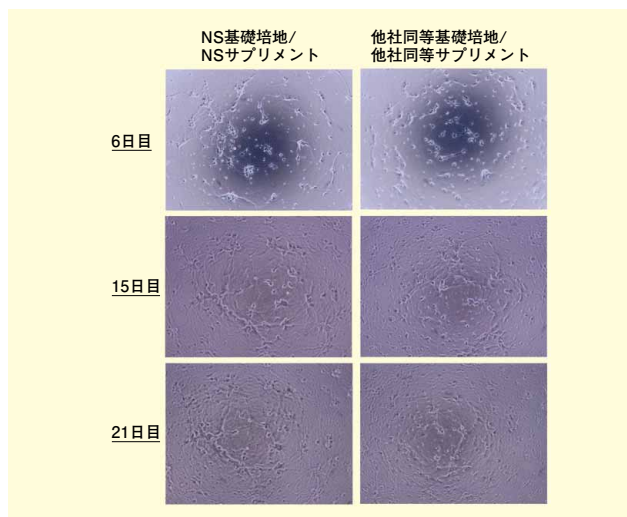
NS基礎培地 / NSサプリメント

NS基礎培地は、神経細胞培養に最適化した基礎培地です。NSサプリメントは、神経細胞培養用の無血清サプリメント（ビタミンA含有）です。ラット海馬より単離した神経細胞の培養に使用できます。NS基礎培地とNSサプリメントを混合してご使用下さい。

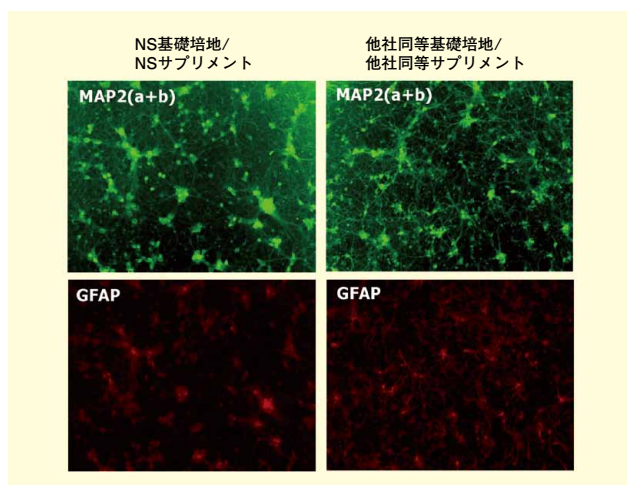
データ

ラット海馬由来初代神経細胞の培養

培養6, 15, 21日目の細胞形態



神経細胞及びグリア細胞マーカー発現の確認



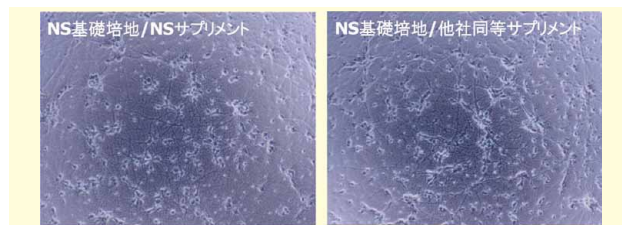
ラット胎児（E19）の海馬より単離した神経細胞をNS基礎培地とNSサプリメントを用いてポリ-L-リジンコートプレート上で培養し、培養6, 15, 21日目の細胞形態を確認した。また、培養21日目の細胞を用いて、神経細胞マーカー（MAP2(a+b)）及び、グリア細胞マーカー（GFAP）の発現を確認した。

[培地組成] NS基礎培地+2% NSサプリメント+0.5mmol/L L-グルタミン [細胞播種数] 13,000cells/well (96wellプレートを使用)

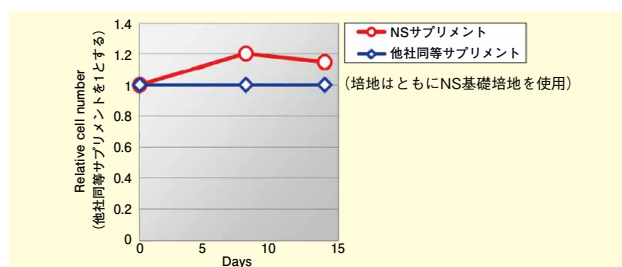
☞2～10℃保存 ☞20℃保存 ☞80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

ラット大脳皮質由来初代神経細胞の培養

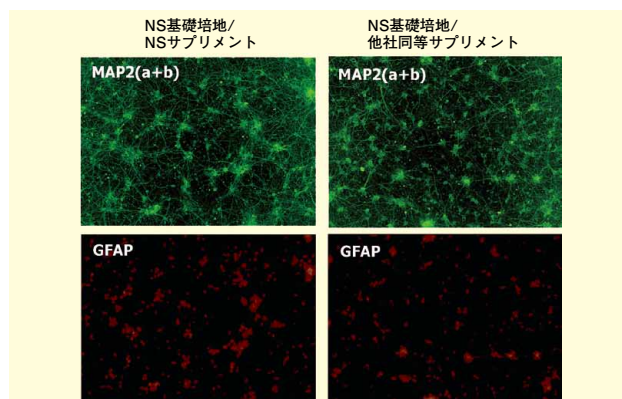
培養8日目の細胞形態



培養8, 14日目の相対細胞数比較



神経細胞及びグリア細胞マーカー発現の確認



ラット胎児（E17）の大脳皮質より単離した初代神経細胞をNS基礎培地とNSサプリメントを用いてポリ-L-リジンコートプレート上で培養し、培養8, 14日目の細胞数を確認した。また、培養14日目の神経細胞マーカー（MAP2(a+b)）とグリア細胞マーカー（GFAP）の発現を確認した。
[培地組成] NS基礎培地+2% NSサプリメント+0.5mmol/L L-グルタミン [細胞播種数] 60,000cells/well (96wellプレートを使用)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
148-09615	NS Basal Medium	☞	細胞培養用 500ml	8,000
146-09351	NS Supplement (×50)	☞	細胞培養用 10ml	20,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
073-05391	200mmol/L L-Glutamine Solution (×100)	☞	細胞培養用 100ml	3,000
141-09041	N2 Supplement with Transferrin (Apo) (×100)	☞	細胞培養用 5ml	20,000
141-08941	N2 Supplement with Transferrin (Holo) (×100)	☞	細胞培養用 5ml	18,000

※N2 Supplement with Transferrin (Apo) では培地中のFeイオン添加量が抑えられるため、酸化ストレスに弱い細胞などに適している場合があります。

マスターファイルに登録済み Wako Y-27632, MF

本品は、培地添加物として2015年9月に原薬等登録原簿（マスターファイル，MF）に登録されました。製造工程や分析試験のバリデーション、要因変更管理を実施し、恒常的に安定した品質の製品を得られる体制で製造しています。

Y-27632は、ROCKシグナル伝達系に作用する選択的かつ強力なROCK阻害剤であり、ヒトES・iPS細胞の凍結保存後の生存率及びクローニング効率を高める作用などが報告されています。

当社は、株式会社エーピーアイコーポレーションから、Y-27632における製造販売ライセンスを受けている唯一のメーカーです。

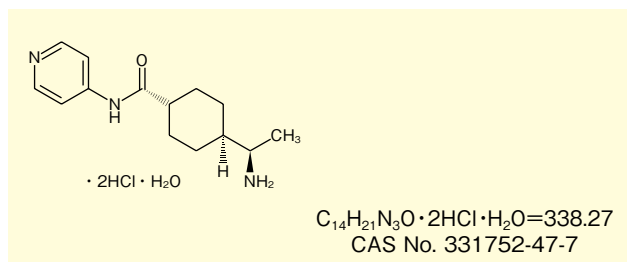
特長

- MF登録済み*（登録番号：227MF 40013）
- アニマルフリー：動物由来原料不使用の化学合成品
- 国産：合成～包装までを全て日本国内で製造
- 高い品質安定性：連続複数ロット合格実績

*原薬等登録原簿（MF）への登録は、厚生労働省（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）による、品質及び安全性に関する確認または評価が行われたことを意味するものではありません。

製品概要

- 外観：白色～うすい黄色、結晶性粉末～粉末
- 含量(HPLC)：98.0%以上
- 溶解性：水に可溶
- 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ (c=1.0, CH₃OH)：+2.0 ~ +10.0°
- エンドトキシン：0.25EU/mg 未満
- 生菌数試験：20CFU/g 以下
- マイコプラズマ試験済み



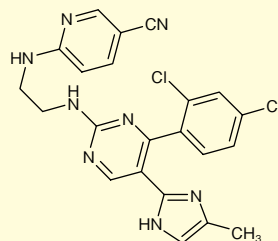
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
259-00613	Y-27632, MF	細胞培養用	5mg	50,000
257-00614			25mg	200,000

培地にそのまま添加できる溶液タイプ Wako CultureSure® 10mmol/ℓ CHIR99021 DMSO 溶液, 動物由来物フリー

CHIR99021は、高選択性のGSK-3β（glycogen synthase kinase 3β）阻害剤です。CHIR99021、PD0325901を含む培地でES細胞を培養すると、高効率で分化を抑制できると報告されています。本品は、濃度調製し、フィルター滅菌済みのため、そのまま培地に添加してご使用頂けます。原料、製造工程・製造現場で動物由来物を一切使用せず製造しています。

特長

- 面倒な試薬の調製が不要
- フィルター滅菌済みでそのまま使える
- 無菌試験、エンドトキシン、マイコプラズマ試験済み
- アニマルフリー



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
038-24681	CultureSure® 10mmol/ℓ CHIR99021 DMSO Solution, Animal-derived-free	細胞培養用	300μℓ	25,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
039-24611	CultureSure® 3mmol/ℓ CKI-7 Dihydrochloride Solution, Animal-derived-free	細胞培養用	1ml	25,000
033-24631	CultureSure® 5mmol/ℓ SB431542 DMSO Solution, Animal-derived-free	細胞培養用	1ml	25,000
039-24591	CultureSure® 10mmol/ℓ Y-27632 Solution, Animal-derived-free	細胞培養用	300μℓ	30,000
166-25951	10mmol/ℓ PD0325901 DMSO Solution	細胞培養用	300μℓ	30,000
163-25961	10mmol/ℓ PD184352 DMSO Solution	細胞培養用	300μℓ	20,000
204-19551	10mmol/ℓ Thiazovivin DMSO Solution	細胞培養用	300μℓ	30,000
253-00591	5mmol/ℓ Y-27632 Solution	細胞培養用	300μℓ	20,000

マイクログリアマーカー標識抗体

抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合

抗 Iba1, ウサギ, 赤色蛍光標識(635)結合

Iba1 は、神経のマイクログリア特異的に発現している約 17kDa のタンパク質で、マイクログリアマーカーとして使用されます。

本品は、ビオチンや Cy5 領域の赤色蛍光色素を標識した抗体で、二次抗体が不要です。

特長

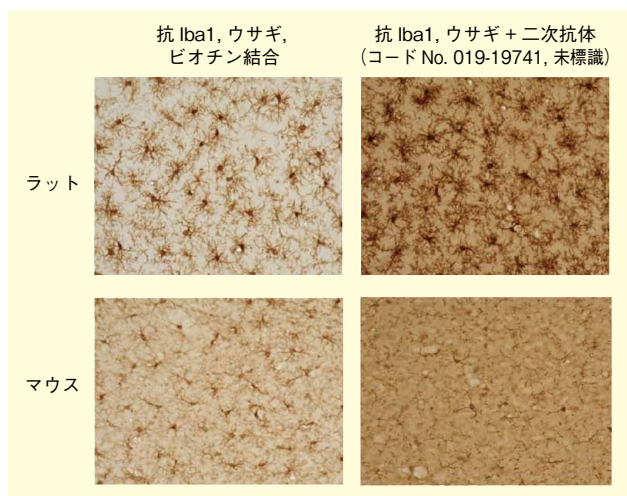
- 標識済みのため二次抗体不要
- 二次抗体を使用した場合よりバックグラウンドが低い

製品概要

	抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合	抗 Iba1, ウサギ, 赤色蛍光標識(635)結合
標識	ビオチン	Cy5 領域の赤色蛍光色素 (Ex=634nm, Em=654nm)
抗体濃度	0.5mg/ml	
サブクラス	ウサギ IgG	
交差性	マウス、ラット	
適応	免疫組織染色 (1:200 ~ 2,000)	

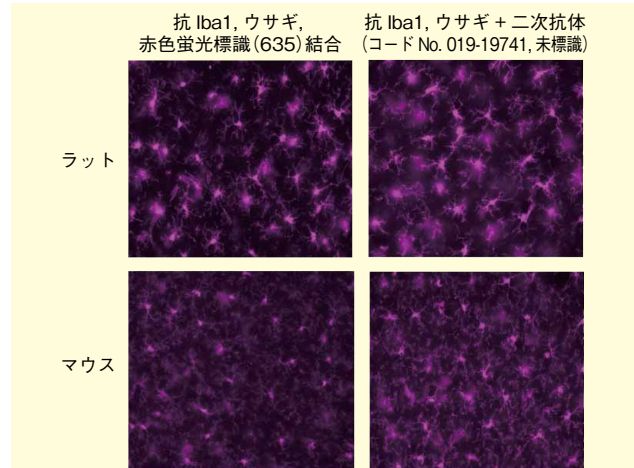
使用例

抗 Iba1, ウサギ, ビオチン結合の免疫組織染色





サンプル：7 週齢 Winstar ラット及び 7 週齢 ICR マウス大脳皮質
 二次抗体：抗ウサギ IgG, ビオチン標識
 染色法：ABC 法 + DAB 染色
 (データご提供：国立精神神経医療研究センター 佐柳先生、一戸先生、高坂先生)



抗 Iba1, ウサギ, 赤色蛍光標識(635)結合の免疫組織染色



サンプル：7 週齢 Winstar ラット及び 7 週齢 ICR マウス大脳皮質
 二次抗体：抗ウサギ IgG, AlexaFluor® 647 標識
 (データご提供：国立精神神経医療研究センター 佐柳先生、一戸先生、高坂先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-26461	Anti Iba1, Rabbit, Biotin-conjugated 	免疫化学用	100µl	45,000
013-26471	Anti Iba1, Rabbit, Red Fluorochrome (635)-conjugated 	免疫化学用	100µl	45,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-19741	Anti Iba1, Rabbit (for Immunocytochemistry) 	免疫化学用	50µg	30,000
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting) 	免疫化学用	50µg	30,000




39 版総合カタログ CHEMICALS 発行 〈2016 年 2 月発行〉

2016-17 年版 (第 39 版) 総合カタログ (CHEMICALS) を発行致します。
 有機・無機試薬、分析用標準品をはじめ、遺伝子研究や培養関連試薬など、幅広い分野の商品約 46,000 品目を収載しています。
 ご希望の方は、当社担当営業または、代理店へお問合せ下さい。

〈カタログ構成〉

1. 目次・序文
2. 原子量表
3. 本文
4. 抗体
5. クロマトカラム
6. 契約取扱い品
7. 臨床検査薬
8. 化成品
9. 和名索引



 2 ~ 10°C 保存  20°C 保存  80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
 掲載内容は、2016 年 1 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

組織固定液



中性緩衝ホルマリン液

パラホルムアルデヒド溶液

25%グルタルアルデヒド溶液

組織の固定とは、生体より採取した組織片の生態または病態を顕微鏡標本として観察する際に、できる限り「生きていた時の状態」のままに保存するための工程です。

一般的によく使用される中性緩衝ホルマリン液に、持ち運びに便利な5ℓ容量を追加しました。取扱いに便利なコック付き容器を採用していますので、必要な容量を取り出す時に便利です。その他、アンプル包装のパラホルムアルデヒド溶液、グルタルアルデヒド溶液も品揃えしています。

■ 中性緩衝ホルマリン液

ホルマリンは酸化され、ぎ酸を生じ、組織によってはこの酸の影響を受けるものがありますが、中性緩衝ホルマリン液は、ホルマリンにりん酸ナトリウムを加えてpH約7.4に調整したもので、酸による組織への影響がありません。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-01661			1ℓ	2,100
NEW 068-01663	10% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	5ℓ	4,800
060-01667			20ℓ	10,000
069-02391			1ℓ	2,100
NEW 065-02393	15% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	5ℓ	4,800
067-02397			20ℓ	10,000
060-01721			1ℓ	2,100
NEW 066-01723	20% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	5ℓ	4,800
068-01727			20ℓ	10,000

■ パラホルムアルデヒド溶液

■ 25%グルタルアルデヒド溶液

パラホルムアルデヒド溶液はアンプル包装品（不活性ガス封入）のため、保存時の酸化による、ぎ酸生成の心配がなく、開封した時にいつでも“フレッシュ”な状態でご使用頂くことができます。アンプル包装の25%グルタルアルデヒド溶液もご用意しています。



特長

- 使いきりに便利な少量アンプル包装
- 溶液調製の時間と労力を削減し、実験・研究をスピードアップ
- 各種実験のアプリケーションに適用可能

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
169-26563	10w/v% Paraformaldehyde Solution, Methanol free	細胞生物学用	10mℓ×10A	10,000
167-25981	16w/v% Paraformaldehyde Solution, Methanol free	電子顕微鏡用	1mℓ×10A	8,000
163-25983			10mℓ×10A	10,500
077-06271	25% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	10mℓ×10A	11,000

海洋天然物由来毒素

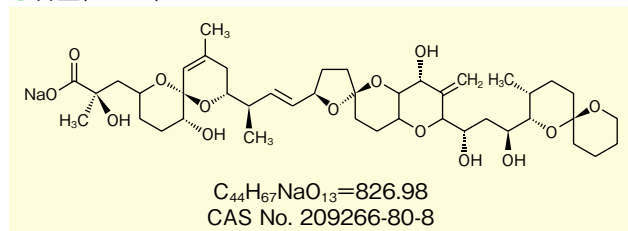


オカダ酸ナトリウム

オカダ酸は、クロイソカイメンより単離された下痢性貝毒の原因物質です。non-TPA タイププロモーター活性、カルシウム除去液中での平滑筋の収縮、プロテインホスファターゼの特異的な阻害によるタンパク質のりん酸化の促進などの生理活性が報告されています。本品は、オカダ酸のナトリウム塩です。

製品概要

- 外観：薄膜
- メタノール溶状：試験適合
- 含量(HPLC)：80.0%以上



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 155-03381	Okadaic Acid Sodium Salt	生化学用	100μg	51,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
042-33671	Dinophysistoxin-1	生化学用	100μg	50,000
152-03271	Okadaic Acid	生化学用	25μg	16,000
158-03273			100μg	46,000
165-26141	Palytoxin	生化学用	100μg	53,000

上記以外の海洋生物由来毒性成分を当社HPにてご紹介していますので、是非ご覧下さい。(http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/Marintoxin/index.htm)

神経変性疾患研究関連試薬



シヌクレイン, ヒト, 組換え体

シヌクレインは、神経細胞に高発現する可溶性タンパク質です。α、β、γの3種類が知られています。α-シヌクレインは、シナプス小胞の伝達制御に関わると考えられており、パーキンソン病、レビー小体型認知症などの神経変性疾患で、神経細胞内部に蓄積されるレビー小体の主要な構成成分です。レビー小体内のα-シヌクレインの多くはリン酸化されています。一方、β-シヌクレインは、α-シヌクレインの凝集を防ぐことが示唆されており、β-シヌクレイン変異体が、パーキンソン病やレビー小体型認知症といった神経変性疾患に関与していることが報告されています。γ-シヌクレインは、末梢神経系に高発現しています。生理作用はあまり明らかにされていません。

製品概要

- 形状：凍結乾燥品
- 凍結乾燥前バッファー：20mmol/l 重炭酸アンモニウム
- 宿主：大腸菌
- 溶解性：2.5mg/ml (20mmol/l 重炭酸アンモニウム)、2.5mg/ml (10mmol/l リン酸バッファー (pH 7.4), 50mmol/l NaCl)
- 備考：6×His タグ付加

アミノ酸配列

<α-シヌクレイン>

AHHHHHH+MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEKTKQGVAAEAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVHG
VATVAEKTEQVTN VGGAVTGVTAQAQKTEVAGSIAAATGFVKKDQLGKNEEGAPQEQI
LEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEP EA

<β-シヌクレイン>

AHHHHHH+MDVFMKGLSMAKEGVVAAAEKTKQGVTEAAEKTKEGVLYVGSKTRREGVVQ
GVASVAEKTKEQASHLGGAVFSGAGNIAAATGLVKREEFPD LKPEEVAQEAEEPLIEPL
MEPEGESYEDPPQEEYQEYEPEA

<γ-シヌクレイン>

AHHHHHH+MDVFMKGFSGIAKEGVVAVGAEKTKQGVTEAAEKTKEGVMYVGAKTENVVQS
VTSVAEKTEQANAVSEAVVSSVNTVATKVTVEEAENIAVTSVGVVRKEDLRPSAPQGEQEA
SKEKEEVAEEAQS GGD

* AHHHHHHH : 6×His タグ

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 190-17941	α-Synuclein, Human, recombinant [E°]	細胞生物学用	0.5mg	30,000
NEW 197-17951	β-Synuclein, Human, recombinant [E°]	細胞生物学用	0.5mg	30,000
NEW 194-17961	γ-Synuclein, Human, recombinant [E°]	細胞生物学用	0.5mg	30,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
015-25191	Anti Phosphorylated α-Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64) [E°]	免疫化学用	50μl	30,000
136-16381	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Hydrochloride [MPTP] [E°]	細胞生物学用	10mg	18,000

[E°]…2 ~ 10℃保存 [E°]…20℃保存 [E°]…80℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

がん研究関連試薬

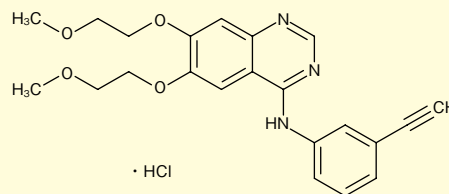


エルロチニブ塩酸塩

エルロチニブは、上皮成長因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼの選択的な阻害剤です。ATP 競合的に EGFR チロシンキナーゼを阻害し、EGFR 遺伝子変異による腫瘍細胞の増殖を抑制します。

製品概要

- 外観：白色～うすい褐色、粉末
- メタノール溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上



C₂₂H₂₃N₃O₄ · HCl = 429.90
CAS No. 183319-69-9

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 057-09111	Erlotinib Hydrochloride [E°]	薬理研究用	100mg	8,000
NEW 053-09113			500mg	32,000

デンプン分解酵素



α-アミラーゼ

本品は、麦芽、細菌、糸状菌や動物の唾、唾液などに広く存在する酵素です。デンプンやグリコーゲンのα-1,4-グルコシド結合を加水分解し、多糖またはオリゴ糖を生成します。

製品概要

- 外観：白色～灰褐色、粉末
- 活性：200units/mg (初回生産ロット)
- 由来：Bacillus subtilis

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 017-26371	α-Amylase [E°]	生化学用	5g	2,500
NEW 015-26372			25g	4,800

関連商品

α-グルコシダーゼ阻害剤

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-22671	Acarbose	薬理研究用	1g	11,000
015-22673			10g	77,000

簡易型エンドトキシン測定システム

トキシノメーター[®] ET-Mini

リムルス ES-II プラス CS シングルテストワーク

エンドトキシン試験は、近年、さまざまな分野でのニーズが高まっています。特に医療現場においては先進医療の発展により、PETをはじめとする院内製剤や、細胞加工を伴う再生医療製品にも安全管理の必要性が増しています。本システムでは、簡易型測定装置（トキシノメーター[®] ET-Mini）と試薬キット（リムルス ES-II プラス CS シングルテストワーク）の組合せにより、迅速かつ簡単にエンドトキシンが測定できます。さらに、試薬キットに添付の保存検量線を使用、PC と PPC も付属の低含量 CSE から 1 ステップで調製できるため、人為差が少なく信頼性の高い定量結果が得られます。



※本システムは日本薬局方のエンドトキシン試験法には準拠しておりません。

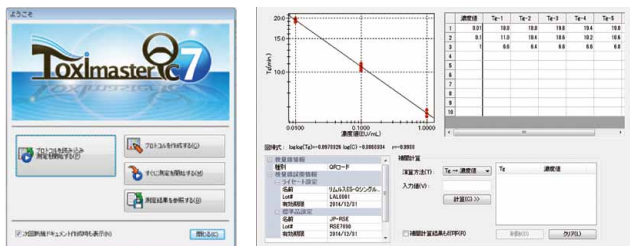
CSE：コントロールスタンダードエンドトキシン
 PC：陽性コントロール（検量線の中点付近濃度の標準溶液）
 PPC：陽性製品コントロール（検量線の中点付近濃度になるように調製した試料溶液）

特長

- 簡便な操作性
測定からレポート作成まで専用ソフトウェアがサポート
- 保存検量線データ添付
標準液調製と検量線測定が不要
- 低含量 CSE 付属
PC と PPC の調製が容易

操作概要

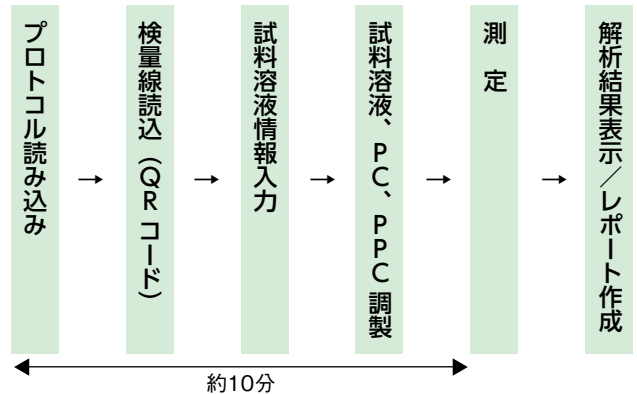
■ 測定からレポート作成まで専用ソフトウェアがサポート



ソフトウェア画面

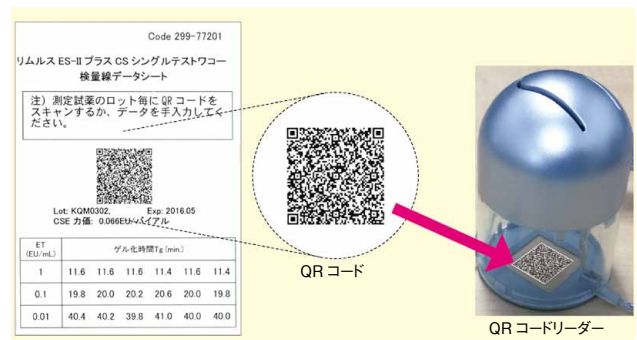
Refr. 2 ~ 10°C 保存 E 20°C 保存 80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
 掲載内容は、2016年1月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

測定プロトコルの読み込みから約10分で測定を開始、終了後はデータ処理からレポート作成まで一連作業をサポートします。



■ 標準液調製と検量線測定が不要

試薬キットに添付されている検量線データシートの QR コードを QR コードリーダーで読み込むことで、標準液調製と検量線測定が不要となります。



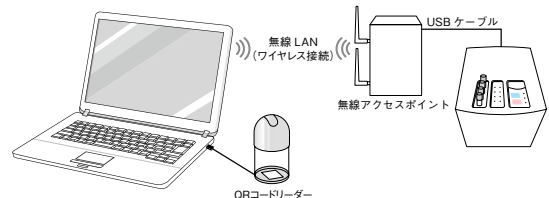
QR コードは（株）デンソーウェーブの登録商標です。

■ 測定装置

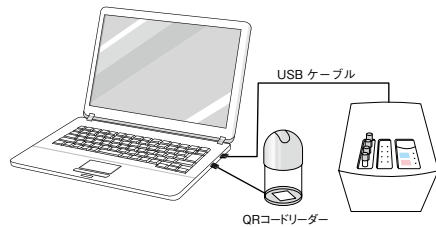
トキシノメーター[®] 基本構成

構成	セット	無線	有線
トキシノメーター [®] ET-Mini		○	○
トキシマスター [®] QC7 for ET-Mini		○	○
パソコン		○	○
QR コードリーダー		○	○
無線モジュール		○	—

無線セット



有線セット



コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
296-35191	Toxinometer® ET-Mini Wireless Set	1台	750,000
299-35181	Toxinometer® ET-Mini Wired Set	1台	700,000

■ 試薬キット

キット内容

- リムルス ES- II シングル試薬 0.2ml 用 × 32 本
- 低含量 CSE 16 本
- 検量線データシート 1 枚

コード No.	品名	検量範囲	規格	容量	希望納入価格 (円)
299-77201	Limulus ES- II plus CS Single Test Wako	0.01~1 EU/ml	エンドキシン検出用	32回用 (*)	49,500

(*) 標準プロトコルで使用時は 8 検体測定分に相当します。

● オプション

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
292-35171	Toxinometer® ET-Mini (増設用モジュール)	1台	450,000
-	設置時IQ/OQバリデーション	1回	照会
-	定期点検OQ	1回	照会
-	温度キャリブレーション (センドバック対応)	1回	照会

関連商品

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
294-35011	BioCleanTip Wako® Extend S II	100本	6,000
298-35031	BioCleanTip Wako® 1000 II	100本	3,600
517-64921	Finnpipette F2 20~200 µl (メーカー：サーモフィッシャー) メーカーコード FN-442080	1本	31,000
514-64931	Finnpipette F2 100~1000 µl (メーカー：サーモフィッシャー) メーカーコード FN-464290	1本	31,000
292-32751	Limulus Test Tubes-S with Aluminium Cap	10本×8	16,000

試験研究用試薬・機器です。疾病の診断には使用できません。

エンドトキシン試験法セミナー 2016

〈東京会場〉

日時：2016年2月5日(金) 13:00~17:00
(受付開始 12:30~)
会場：コクヨホール (品川)
〒108-8710 東京都港区港南 1-8-35
定員：150名

〈大阪会場〉

日時：2016年2月10日(水) 13:00~17:00
(受付開始 12:30~)
会場：千里ライフサイエンスセンター
〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町 1-4-2
定員：150名

参加費：無料

申し込み方法：■ Web 申し込みページ：<http://www.wako-chem.co.jp/lal/workshops/2015workshops.html>

■ FAX の場合：Web 申し込みページの申し込み用紙 (pdf) をダウンロード頂き、必要事項をご記入の上、下記に FAX 下さい。

FAX：06-6233-3409

先着順、定員になり次第締め切りとさせていただきます。ご了承下さい。

〈スケジュール〉

13:00	開会挨拶	日本防菌防黴学会
13:10	日局エンドトキシン標準品の現状・課題と今後の対応	—三極薬局方エンドトキシン標準品の変遷と国際調和を踏まえて— 一般財団法人 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団
		大阪事業所 標準品事業部 生物薬品課長 中川ゆかり
14:00	グルコースのリン酸化体のエンドトキシン測定における反応干渉抑制効果	沢井製薬株式会社 生物研究部 薬物動態グループ 藤田 優
15:00	コーヒーブレイク (25分)	
15:25	新規簡便法試薬と測定システムのご紹介	和光純薬工業株式会社 BMS 開発部 高須賀禎浩
16:10	エンドトキシン試験の実際	和光純薬工業株式会社 BMS 開発部 高岡 文
16:40	閉会挨拶	和光純薬工業株式会社
16:45	質疑応答 (個別) & 機器展示	

* Wako LAL システム：エンドトキシン情報のポータルサイトです。エンドトキシンに関する情報を配信しておりますのでご覧下さい。<http://www.wako-chem.co.jp/lal/index.html>

東京薬科大学 生命科学部 免疫制御学研究室 四元 聡志

第31回 Wako ワークショップ「細胞死の New Horizon - 細胞死研究の先に見えてきたもの」が2015年11月4日に東京・品川にある東京カンファレンスセンターにて開催されました。生体内で起こる細胞死は、これまで不要・有害な細胞を生体から排除するための機構と考えられていました。しかしながら、近年、死細胞が周囲の細胞にメッセージを発信し、免疫応答、炎症、修復、再生および線維化といった生体応答の起点となっていることが明らかになりつつあり、細胞死研究は大きな転機を迎えていると思われまます。これに付随して、昨年度から日本では細胞死研究に大型予算が投入されています。今回のワークショップでは、アポトーシス、ネクロプトーシス、新規細胞死（オートファジー細胞死、フェルトーシス、パイロトーシス）の分子機構の解析に加え、個体発生や病態における各細胞死の役割について、本分野の第一線でご活躍されている6人の先生方がそれぞれの研究内容についてご講演されました。

最初のご講演者は、東京大学大学院薬学系研究科の三浦正幸先生で「細胞死による生体の恒常性維持機構」というタイトルでご講演されました。発生過程における細胞死の重要性に関して解説していただく中で、発生過程の

細胞の消失が、すでに1800年代に明らかとなっていたという歴史的背景に驚かされました。三浦先生は遺伝学的操作を駆使して、ショウジョウバエ幼虫の一過的な成虫原基傷害は、傷害部位から離れた組織の代謝を変えて、その影響が成虫原基再生に寄与することを明らかにされていました。死細胞が近傍のみならず、遠隔の組織にも働きかけ発生や再生過程における組織恒常性維持に関与していることは、今後の細胞死研究の重要な考え方になっていくと感じました。発生過程における細胞死に関するご発表とは別に、新規細胞死として近年解析が進んでいるパイロトーシスについても最新の研究結果についてお話しされました。パイロトーシスを起こした細胞からはカスパーゼ依存的に炎症性サイトカインである $IL-1\beta$ が産生されますが、個々の細胞がどのようなタイミングでカスパーゼの活性化および $IL-1\beta$ を分泌するか明らかではありませんでした。イメージング技術を用いて、個々の細胞がそれぞれのタイミングでカスパーゼを活性化し、細胞死後に $IL-1\beta$ を爆発的に放出することを明らかにしていました。このような生体イメージングを用いた解析は、今まで見ることも出来なかった現象を詳細に明らかにできることから、三浦先生の研究の進展が期待されます。

続いて、東京医科歯科大学難治疾患研究所の清水重臣先生が「細胞死と

オートファジーのクロストーク」というタイトルでご講演されました。オートファジーは、我が国を中心として研究が進んできました。その中で、清水先生は、従来型の Atg5 依存的オートファジーとは異なる Atg5 非依存的オートファジーを世界に先駆けて発見されています。はじめに、Atg5 欠損 (Atg5 依存的オートファジー欠損) および Ulk1 欠損マウス (Atg5 非依存的オートファジー欠損) を用いて Atg5 非依存的オートファジーが、赤血球分化の最終段階でミトコンドリアを処理する過程において重要な役割を果たしていることを明らかにされました。さらに Atg5 非依存的オートファジーに関与する遺伝子群のクローニングと、その遺伝子改変マウスの作製と解析を進められており、今後の研究展開に大きな期待が感じられました。さらに、通常は、細胞の生存に関わるオートファジーが、状況によっては細胞死 (オートファジー細胞死) に関与することを解説して頂きました。清水先生は、このオートファジー細胞死を癌治療に応用するため、癌細胞に対して積極的にオートファジー細胞死を誘導できるリード化合物をスクリーニングされました。さらに、そのリード化合物からより効果的にオートファジー細胞死を誘導できるものの合成まで行われています。今後、オートファジー細胞死が癌治療へ応用できる可能性を強く示唆されていました。戦略的に研



総合企画の田中正人先生



講演風景



ロビー風景

究を進められている清水先生のご研究姿勢に感銘を受けました。

昼食休憩をはさんで、北里大学大学院薬学研究科の今井浩孝先生が「脂質酸化依存的新規細胞死（フェロトーシス）と疾患」というタイトルでご講演されました。フェロトーシスは、鉄依存性の脂質酸化依存的に誘導される細胞死であり、フェロトーシスを誘導する薬剤は、抗癌剤への応用が期待されています。しかしながら、どのような分子メカニズムで細胞死が誘導されるか不明な点が多く、講演の最初にその概説をして頂きました。一方で、今井先生は、GPx4を欠損した正常細胞ではフェロトーシスと類似した細胞死（GPx4欠損細胞死）が誘導されることを見いだされています。GPx4欠損細胞死は、鉄のキレーターでは抑制されず、また、細胞死が誘導されるまでには比較的長い時間がかかることから、これまでに報告されているフェロトーシスとは分子機序の異なる新規細胞死である可能性を示唆されています。今後、フェロトーシスとGPx4欠



三浦 正幸 先生



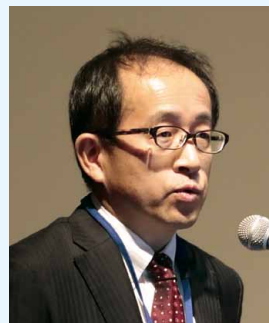
清水 重臣 先生



今井 浩孝 先生



中野 裕康 先生



安友 康二 先生

損細胞死との違い、その分子メカニズム、どの脂質分子の酸化が重要であるか、および他の細胞死とのクロストークなど解析するべきことが多く今後の

研究進展が多いに期待されると感じました。

次に、東邦大学医学部医学科の中野裕康先生が、「ネクロプトーシスによ

第31回 Wako ワークショップ

「細胞死の New Horizon - 細胞死研究の先に見えてきたもの」

日 時：平成27年11月4日（水）10:00～17:30

会 場：東京コンファレンスセンター・品川 5F 大ホール

総合企画：田中 正人先生（東京薬科大学 生命科学部免疫制御学研究室）

主 催：和光純薬工業株式会社

〈講演プログラム〉

10:00	開会挨拶		和光純薬工業株式会社
10:10	『細胞死による生体の恒常性維持機構』	東京大学 大学院薬学系研究科遺伝学教室 教授	三浦 正幸
11:10	『細胞死とオートファジーのクロストーク』	東京医科歯科大学 難治疾患研究所病態細胞生物学 教授	清水 重臣
12:10	休 憩		
13:00	『脂質酸化依存的新規細胞死(フェロトーシス)と疾患』	北里大学 大学院薬学研究科衛生化学教室 教授	今井 浩孝
14:00	『ネクロプトーシスによる生体応答制御』	東邦大学 医学部医学科生化学講座 教授	中野 裕康
15:00	コーヒーブレイク		
15:20	『細胞死制御異常による遺伝性疾患』	徳島大学 大学院医歯薬学研究部生体防御医学分野 教授	安友 康二
16:20	『死細胞貪食による免疫制御』	東京薬科大学 生命科学部免疫制御学研究室 教授	田中 正人
17:20	閉会挨拶		和光純薬工業株式会社

Wako ワークショップ 見聞録

る生体応答制御」というタイトルでご講演されました。まず、計画的ネクロシスの一つであるネクロプトーシスの実行因子がRIPK3であること、また、RIPK3欠損マウスが正常に成育することから、特定の炎症状態で重要な役割を果たしている可能性があることを解説していただきました。中野先生は、計画的ネクロシス誘導に重要なヒトcFLIPsノックインマウスを作製され、このマウスでは、腸管上皮細胞がアポトーシスとネクロプトーシスに陥っていることを見いだされています。この腸管上皮の細胞死は、ヒトcFLIPsノックインマウスとRIPK3欠損マウスを交配することで部分的にレスキューされることから、この細胞死にネクロプトーシスが関与している可能性を示唆されました。さらに、腸管上皮死細胞が組織修復に関与している可能性に関して検討され、消化管死細胞から放出される細胞増殖に関与する2つの遺伝子を同定されていました。すでにこの遺伝子の欠損マウスを作製済みであり、さらなる解析を進めるとのお話がありました。ネクロプトーシスは誘導機構や病態形成における役割など、まだ、明らかにすべきことが多くありますが、中野先生のご研究がこの分野を牽引されていかれると強く感じingご講演でした。

コーヒーブレイク後、徳島大学大学院医歯薬学研究部の安友康二先生が「細胞死制御異常による遺伝性疾患」というタイトルでご講演されました。遺伝性疾患の中でも、先生が注目されている自己炎症性疾患（明らかな感染や自己免疫応答を伴わない炎症性疾患）に関してわかりやすく解説していただきました。その後、自己炎症性疾患である家族性寒冷蕁麻疹と、特発性肺線維症の最新の研究成果に関してご講演されました。家族性寒冷蕁麻疹の原因遺伝子がNLRC4であることをゲノム解析により同定し、さらにNLRC4変異マウスでは、寒冷刺激に

より足蹠の肥厚とIL-1 β 分泌の増加が認められ、この肥厚はIL-1 β の阻害により部分的に抑制されることを示されていました。一方で、IL-1 β 以外の経路の関与も示唆されており、今後、他の経路の関与が明らかとなることで病態の完全な制御が可能になると予感させられました。また、特発性肺線維症に関しても原因遺伝子の一つを同定され、この遺伝子を変異させたマウスではウイルス感染時に肺胞上皮細胞死が観察に用いられることを明らかにしておられました。どのような細胞死がこの肺胞上皮細胞死に関与するか詳細な解析が待たれます。安友先生は、希少疾患に注目し研究を進めておられ、これらの疾患で苦しんでおられる方々にとって大きな希望を与える研究をされていると感じました。

最後に、本ワークショップを総合企画された東京薬科大学生命科学部の田中正人先生が「死細胞貪食による免疫制御」というタイトルでご講演されました。まず、マクロファージによる死細胞貪食の歴史的背景からご説明していただきました。その中で、田中先生は、これまでにマクロファージが死細胞を貪食することによって、自己免疫疾患の発症を抑制することや抗原特異的な免疫応答を誘導する場合があることを明らかにされています。さらに、これらの抑制や誘導にCD169陽性マクロファージが重要な役割を担っていることを示されてきました。現在では、CD169陽性マクロファージ可視化マウスの解析により、CD169陽性マクロファージが腸管の粘膜固有層や腎髓

質に局在し、腸管上皮細胞死に伴う免疫応答や腎虚血再還流障害における炎症制御に関与していることを証明されています。今後は、CD169陽性マクロファージ機能を調節する方法を構築することにより、炎症性腸疾患や虚血性疾患の治療法の開発につなげていきたいとお話で締めくくられました。

すべてのご講演において非常に活発な質疑応答が行われ、本研究分野の関心の高さを伺い知ることができました。どの演題も細胞死研究に横たわる大きな疑問に答えようとするものであり、先生方の研究がさらに推進されることによって、今後、死細胞の生体における役割がより重要視されるようになると思われました。特に、今回のご講演で多くの先生方が検討されていた死細胞から周辺細胞への情報伝達は非常に重要な研究領域へと発展する可能性が考えられました。最後になりますが、総合企画の田中先生をはじめ、発表者の先生方、また、和光純薬の担当者の方々に対して、このような勉強と見聞録執筆の機会を与えて頂きましたことに深く御礼申し上げます。



プログラム終了後の情報交換会



ロビー展示風景

村橋 次郎 (1848. 4. 7 ~ 1912. 12. 23)

京都大学名誉教授 植村 榮

1. 生い立ち

村橋次郎は嘉永元年(1848)4月7日^{注1)}に京都の豪商で葉茶問屋である「鶴屋」の長男として生まれた。実母を早くに亡くし、義母に生まれた当吉が家長として「鶴屋」を継いだために、次郎は分家し、その名字を父の下村から「村」を、実母の橋本から「橋」をとって「村橋」と定めた。幼少より勉学を好み、京都にあった蘭方医・蘭学者広瀬元恭(ひろせげんきょう)(1821-1870)の「時習堂」に学んだ。

2. 化学への道

村橋(写真1)は弱冠12歳の安政7年(1860)に当時外来の学問の中心地であった長崎に遊学し、19歳の慶応3年(1867)まで滞在した。この間、理化学教師として幕府の招請で慶応2年(1866)4月にオランダより来日した医師クーンラート・ウォルテル・ハラタマ(Koenrad Wolter Gratama)(1831-1888)(写真2)に師事した。文久元年(1861)年9月に幕府によって設立された長崎養生所が慶応元年(1865)4月に長崎精得館と改称され、その中に元治元年(1864)8月に設立された分析窮理所でハラタマは化学、物理学、薬物学、鉱物学、理化学教育を行った。なお、長崎精得館と分析窮理所はその後いろいろな変遷を経て、それぞれ現在の長崎大学医学部と薬学部になっている。

ハラタマは来日した翌年の慶応3年(1867)1月に江戸での理化学学校開設



写真2. K. W.ハラタマの胸像(大阪馬場町西)



写真1. 村橋次郎(村橋家提供)

のために招聘されて長崎を離れたが、その頃、村橋も岐阜の大垣藩主・戸田氏共の招請に応じて大垣に移り、大垣藩舎密局(せいみきょく)において鉄砲火薬製造とその指導にあたった。長崎遊学で知り合った先輩である大垣藩出身の大塚専一(地質調査所技師)の薦めもあったように思われる。

ハラタマは江戸には移ったが、幕末維新動乱のため、幕府が江戸に設けた理化学用の開成所はほとんど機能しなかった。この事業は明治元年(1868)新政府により引き継がれ、開成学校として普通学から専門学科に至る教育機関となった。同年、開成所理化学施設が大阪に移され、舎密局として化学教育が進められることになり、ハラタマも大阪に移った。村橋はこの大阪舎密局に入所し、一方で、何 禮之助(が れいのすけ、何禮之(が のりゆき)とも言われる、禮之助は通称)(1840-1923)が主宰する大阪中之島玉江橋近くにあった高松藩邸内での私塾「瓊江塾」(けいこうじゅく、また、たまえじゅくとも呼ばれる)でさらに英語を学んだ。何(が)は幕府が設立した長崎英語伝習所で英語を学び、通訳、翻訳家、教育者、官僚として活躍した人

物である。なお、瓊江は長崎の異称でもある。

3. 化学教官・化学技術者として

紆余曲折を経て明治2年(1869)5月にハラタマを初代教頭にして正式に大阪舎密局の開校式が行われ、7月から化学の講義実験が始まった。化学の学生実習(化学試験伝習稽古)や英語教育も兼ねて理化学教師を養成するというハラタマの考えの下、同年9月には舎密局の学生で優秀であった村橋次郎(当時21歳)ら3人が第三等助手に採用された。

明治3年(1870)5月に大阪舎密局は理学校に改編され、同年10月には大阪開成所の分局となった。一方、翌明治4年(1871)年の1月にハラタマは契約任期が終了し、5月に日本を去ったが、同年村橋は文部省十等出仕の理学校教官になった。その頃、大阪舎密局の近くに創設された造幣寮(現在の造幣局)での硫酸製造所の開業に伴い、村橋は金や銀の分離精製や貨幣洗浄に必要な硫酸製造に力を貸したほか、貨幣分析、薬物検定、温泉の水質分析などを実施、指導した。造幣寮には応接所として明治4年(1871)2月に泉布観(せんぷかん、写真3)が建てられ、現在大阪市所有で国の重要文化財として保存されている。このベランダあたりで村橋らがゆっくりとコーヒーなどを飲みながら談笑し、いろいろと想を練っていたことであろう。

明治5年(1872)8月、大阪舎密局(理学校)は高等教育中央集権化の方針により閉校され、人材は東京開成学



写真3. 大阪造幣局泉布観

校に移った。大阪舎密局は第四学区第一番中学に改編されて高等普通教育機関となり理化学教育は廃止された。その後、明治8年(1875)3月に舎密局の建物を使って大阪司薬場(大阪衛生試験所の前身)が設立された(写真4、5)。なお、この第一番中学は、その後いろいろな変遷を経て、明治22年(1889)9月に京都に開設された旧制第三高等学校につながった。

4. 大垣、東京、新潟、大阪など各地での活躍

村橋は大阪舎密局廃止に伴い明治5年(1872)10月に大阪を去って、長崎での友人大塚専一の薦めで大垣に移り、第五欧学義校教授として化学と英語を教えた。翌明治6年(1873)に大塚の妹である科(しな)と25歳で結婚した。

明治8年(1875)内務省東京司薬場に勤務した後、翌明治9年(1876)に新潟英語学校校長に就任した。この学校はその2年前に官立の新潟師範学校として設立されたもので、短期間の内に新潟外国語学校、新潟英語学校、新潟学校と改称された。当時の新潟は港が開かれ文化度も高いところであった。明治8年に長男村橋素吉が誕生した。

分析官として名を残しているものの1つとして、ベンガラ(赤色顔料)の純度測定がある。すなわち、明治10年(1877)に東京で開催された第一回内国勸業博覧会に出品された岡山県川上郡吹屋村の片山浅次郎製造の赤色顔料ベンガラを、品位第一等とする判定を行った5人の審査官の内の1人を務めている。その名前が内務省御褒状(片山家ではこれを宣伝ビラに掲載している：写真6)に列挙されており、他の審査官として岸本一郎、三崎精輔の二人、審査官部長として宇都宮三郎(化学技術者の先駆けとして著名)、審査室長として前島密(日本郵便の父)という錚々たる人物が名前を連ねている。同じ博



写真4. 舎密局・司薬場のあった場所の現況(大阪馬場町西)



写真5. 舎密局跡の記念碑(大阪馬場町西)

覧会で花紋褒章を受賞した神奈川県の堤 磯右衛門氏製造の石鹼の品位鑑定も同メンバーで行っている。

明治11年(1878)6月に宇都宮三郎、保田東潜(舎密局勤務)、大鳥圭介、榎本武揚らと共に、欧米から実験器具などの理化学器械や薬品等を直輸入することを目的に銀座3丁目28番地に「離舎」という輸入商社を創設した。この会社は現在も(株)離舎社として存続し、海洋・陸水学調査機器、原油・石油製品試験器、各種測定機器などの製造・販売を行っている。なお、離舎という言葉は、「舎密開宗」(せいみかいそう)(1837-1847)を著わした宇田川榕菴(1798-1846)が、結局は舎密と音訳の字を当てたものの(現在は化学という言葉が定着している)、chemieには本来分離・分析だけでなく、ものをつくる合成の面も含むべきであるとの認識からそれを当てるのがいいのではないかと考えたことに由来する。実際、彼の著「植学啓原」(1834)の巻頭にその語が記述されている。

明治12年(1879)3月に、前述した大阪司薬場の試験事務監督に任命された。司薬場は同じ頃に東京と横浜にも設けられたが、これらは明治16年(1883)年にまとめて内務省衛生局試験所と改称された。この年(1879)に長男素吉が大病を患い、その看病疲れ



写真6. 赤色顔料ベンガラの宣伝ビラ

のため、不幸にも妻である科(しな)を失った。

明治13年(1880)3月に、内務省准奏任御用掛大阪司薬場長兼大蔵省造幣局炭酸曹達製造掛に任命された。炭酸曹達製造所は明治11年(1878)8月の石丸安正、大鳥圭介、宇都宮三郎、豊原百太郎の建議によって翌12年(1879)3月大阪に設立されたもので、明治14年(1881)3月から製造を開始した。この製造装置に関わる1/10の模型が現在大阪造幣局構内の造幣博物館に保存され公開されている。

この頃、造幣局に近い村橋の自宅（大阪市北区同心町1丁目）近くに住んでいた当時16歳の池田菊苗（1864-1936）を教え、化学に対する興味を持たせた。池田はその後東京帝国大学教授として後進の指導にあたりると同時に昆布のうま味成分としてグルタミン酸を抽出、同定し、さらにそのナトリウム塩が強いうま味を有することを見出し、調味料（いわゆる「味の素」）としての工業的製法を確立したことは広く知られている。池田は村橋を師と仰ぎ、後年次のように回想している。「余は当時大阪衛生試験所長兼造幣局技師たりし村橋次郎先生に就きて毎週一回講学上の疑を質し実験上にも指導を蒙りたること少からず。余は其の頃殆ど純正化学と応用化学との別を弁へず化学上の事柄は其の理論的たると応用的たるに論なく均しき興味を以て之を学びたり。」村橋はこの年（1880）に大垣藩出身のげんと再婚した（写真7）。

明治17年（1884）9月、東京と大阪の司薬場長を務め東京医学校初代製薬学科教授であった柴田承桂の後を継

いで、内務省大阪衛生試験所の初代所長（司薬場長から数えると4代目）に就任した。その後、明治20年（1887）2月に39歳で同所を退任した。退任後は先に創設した（株）離合社の経営にあたり、斯界に益することが多く、また、勤儉を旨としたが、社会事業にはたとえ損はしても惜し気もなく投資するのが常であった。

大正元年（1912）12月23日、大阪市北区同心町の自宅で64歳の生涯を閉じた。その墓は、先妻科（しな）の墓とともに大阪長柄の大阪市北霊園にある。

5. おわりに

以上のように、村橋次郎は幕末から明治初期にかけての我が国の近代科学の黎明期にいち早く化学と英語を習得し、それを基に多くの人材を育てると同時に、化学分析という手法をもって近代化学工業のいろいろな分野でその草創期での発展に大きく貢献した。

ところで、村橋次郎の長男素吉（1875-1936）は京都帝国大学理工科大学採鑛冶金学科を卒業、ブリキ屑の電

解脱錫法の研究を行い、神戸にあった総合商社鈴木商店入社後はその事業化、さらに樟脳の新精製法の開発、アンモニア工場設立等多くの化学工業の発展に寄与した。素吉の長男村橋素一郎は（株）離合社を受け継ぎ、素介、慎介と代々その経営にあたり現在に至っている。一方、素吉の次男の村橋俊介（1908-2009）は大阪大学名誉教授で有機・高分子化学の大家、俊介の長男村橋俊一（1937-）はやはり大阪大学名誉教授で有機金属化学の泰斗であり、2000年度の日本化学会会長、俊一の次男哲郎（1973-）は現在東京工業大学理工学研究科応用化学専攻教授であり、村橋次郎から数えて5代にわたる化学者の家系をなしている。

謝辞

本稿執筆の機会を与えて下さった日本薬史学会理事松本和男先生および貴重な資料をご提供いただいた大阪大学名誉教授村橋俊一先生に心からお礼申し上げます。

注1) 月日については正確な記録が得られず推定である。

【参考文献】

- 1) 芝 哲夫：「オランダ人の見た幕末・明治の日本－化学者ハラタマ書簡集－」（業根出版）（1993）。
- 2) 芝 哲夫：「日本の化学の開拓者たち（ポピュラー・サイエンス279）」（裳華房）（2006）。
- 3) 藤田英夫：「大阪舎密局の史的展開－京都大学の源流」（思文閣出版）（1995）。
- 4) 山崎泰雄、高原一朗：「備中吹屋」（山陽新聞社）（1993）。
- 5) 「池田菊苗博士追憶録」（池田菊苗先生追憶会）（1956）。
- 6) 内務省衛生試験所：「衛生試験所沿革史」（南江堂）昭和12年（1937）3月。
- 7) 京都帝国大学工学部採鑛冶金学教室 水曜會：水曜會誌，9，135（1937）。



写真7. 村橋次郎家族写真 左より俊介（素吉の次男）、一人おいてげん（次郎の妻）、素吉（次郎の長男）、絢子（素吉の長女）、須賀（素吉の妻）、村橋次郎、素一郎（素吉の長男）（村橋家提供）

抗体ではない新規アフィニティー分子を採用

特許出願中



MagCapture™ エクソソームアイソレーションキットPS

エクソソームは、細胞から分泌される直径 40 ~ 100nm 程度の膜小胞で、細胞間や組織間の新たなコミュニケーションツールとして注目されています。また、がんなどの疾患の診断マーカーや、創薬ターゲット、ドラッグデリバリーのツールとしても注目を集めています。

本キットは、細胞培養上清や血清などのサンプルから高純度なエクソソームを抗体を使用しないアフィニティー法によって簡便に単離することができます。

エクソソームの膜表面に存在するホスファチジルセリン(PS) にカルシウム依存的に結合する物質を使用しているため、キレート剤によりインタクトな状態でエクソソームを溶出できます。

特長

- エクソソームを単離するために必要な試薬をキット化
- 培養上清、血清などからの高純度でインタクトなエクソソームの単離
- 超遠心分離不要のため、簡便な操作で多検体処理が可能
- 超遠心分離法と同等以上の回収効率
- マイクロベジクルなどの細胞外膜小胞の精製にも応用可能

キット内容

● Streptavidin Magnetic Beads	600 μ l \times 1本
● Biotin-labeled Exosome Capture	100 μ l \times 1本
● Exosome Capture Immobilizing Buffer	35ml \times 1本
● Exosome Binding Enhancer (\times 500)	500 μ l \times 1本
● Washing Buffer	75ml \times 2本
● Exosome Elution Buffer	5ml \times 1本
● Reaction Tubes	22本

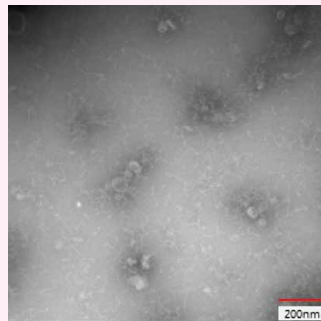
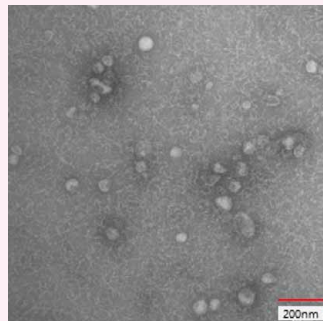
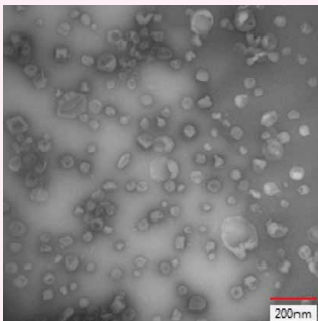
データ

電子顕微鏡解析結果

新規アフィニティー法 (本キット)

超遠心分離法

ポリマー沈殿法



K562 細胞培養上清サンプルから回収したエクソソーム画分 (1.4×10^{10} 粒子) を終濃度 2% パラホルムアルデヒドで固定化し、電子顕微鏡解析を行った。本キットにて回収した画分に、100nm 前後のエクソソーム粒子が多数確認でき、高純度にエクソソームを濃縮することができた。

(データご提供: 金沢大学医学系免疫学 華山教授、大阪大学免疫学フロンティア研究センター 中井先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 293-77601	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	Ref 遺伝子研究用	10 回用	80,000

Ref... 2 ~ 10°C 保存 F... 20°C 保存 R... 80°C 保存 表示がない場合は室温保存です。
 特定毒物 劇物 毒薬 劇薬 危険物 向精神薬 特定麻薬向精神薬原料
 化審法 第一種特定化学物質 化審法 第二種特定化学物質 化学兵器禁止法 第一種指定物質 化学兵器禁止法 第二種指定物質 カルタヘナ法
 覚せい剤取締法 国民保護法
 掲載内容は、2016年1月時点での情報です。上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

取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. 84 No. 1
 2016年1月15日発行
 発行責任者 上田 衡
 編集責任者 鎌田裕子
 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
 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