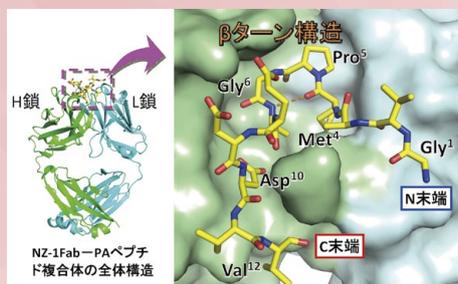


# 和光純薬時報

January 2017  
Vol.85 No.1



NZ-1-PA ペプチド複合体の全体構造と  
抗原結合部の拡大図

## 〔総説〕

「結晶構造から読み解く PA タグシステムの原理とタンパク質ループ構造への挿入」

松永 幸子、有森 貴夫、高木 淳一…………… 2

「ラセミ体アルコールを光学的に純粋な化合物に収率 100% で変換する新技術」

赤井 周司…………… 6

〈テクニカルレポート〉

「 $\alpha$ -グルコシダーゼ活性阻害測定キットの開発」

松井 泰子…………… 10

「新規アフィニティーエクソソーム精製法とエクソソーム高感度検出への応用」

今若 直子…………… 12

## 〔化学大家〕

「後藤 格次」

山本 出…………… 28

## 〔製品紹介〕

### 有機合成

動的光学分割試薬 V-MPS4 ……………	9
アマノリパーゼスクリーニングセット ……………	15
N.E. CHEMCAT 社製 選択的還元触媒 ……………	16
両末端反応型 RAFT 剤 ……………	18

### 免疫

抗アミロイド $\beta$ , モノクローナル抗体 (BAN50/BNT77/BA27/BC05) ……………	22
抗マウスセロトニントランスポーター, ラットモノクローナル抗体 (R5-3-2) ……………	23
抗マウス Nestin, ラットモノクローナル抗体 (7A3) ……………	23

### 培養

StemSure <sup>®</sup> on-feeder hPSC 培地 ……………	24
CultureSure <sup>®</sup> IWR-1-endo ……………	24
NS サプリメント (インスリン不含) ……………	25
バッグ充てん液体培地 / プロセス溶液 ……………	32

### 環境・分析

$\alpha$ -グルコシダーゼ活性阻害測定キット ……………	11
中圧分取 / フラッシュクロマト用カラム Presep <sup>®</sup> ……………	18
ポジティブリスト関連標準品 ……………	19

### 細胞生物

プロテインアッセイラピッドキットワコーII ……………	26
COX-2 阻害剤 (ニスメリド, ロフェコキシブ) ……………	27
HIV プロテアーゼ阻害剤 チプラナビル ……………	27
アルテピリン C ……………	27

### 遺伝子

PA tag 検出・精製用試薬 ……………	4
MagCapture <sup>™</sup> HP 抗 PA タグ抗体磁気ビーズ ……………	5
MagCapture <sup>™</sup> エクソソームアイソレーションキット PS ……………	14
PS Capture <sup>™</sup> エクソソーム ELISA キット (Anti Mouse IgG POD) ……………	14
Ni-NTA アガロース……………	20
人工遺伝子合成サービス ……………	21

## 〔お知らせ〕

有機合成用 酵素反応 バンフレット発行のご案内 …………… 15

5<sup>th</sup> IIS Symposium・32<sup>nd</sup> Wako Workshop Joint Meeting 開催報告 …………… 25

### 1 はじめに

タンパク質の構造解析や機能解析を行うためには高純度の精製タンパク質が必要であり、筆者らの研究室ではより効率的な試料調製を行うためのカスタムアフィニータグシステムを開発してきた<sup>1,2)</sup>。中でも PA タグシステムは、12 残基からなる PA タグ (GVAMPGAEDDVV) が、それに対するモノクローナル抗体 NZ-1 に対して極めて高い親和性で特異的に結合し ( $K_D = 4 \times 10^{-10}$  M)、しかも PA ペプチドにより容易に競合溶出させることが可能なため、一段階で目的タンパク質を高純度かつ高収率で精製することができる<sup>3,4)</sup>。そもそも PA タグシステムの開発は、東北大・加藤幸成教授らにより、悪性癌細胞に高発現する膜タンパク質ポドプラニンの部分配列 (PA タグ配列) に対する特異的抗体 NZ-1 を取得したことに端を発する<sup>5)</sup>。NZ-1 が単独の PA ペプチドに対しても強く結合することに着目し、筆者らのグループによりアフィニータグシステムとして確立するに至った。詳細は和光純薬時報 Vol. 82, No.4 (2014) および文献 4 を参照されたい。最近、筆者らは PA ペプチドと NZ-1 の複合体の結晶構造を決定し、その特徴的な複合体形成機構より、PA タグシステムの新たな利用法を見出した<sup>6)</sup>。本稿では PA タグのループ構造への挿入およびそのタンパク質機能解析ツールとしての応用例を報告する。

### 2 PA タグペプチド - NZ-1 抗体の複合体構造解析

冒頭でも触れたが、PA タグは NZ-1 へ高親和性で結合する。そのメカニズムを知るため、NZ-1 の Fab フラグメント単独および PA ペプチドとの複合体の結晶構造を決定した (PDB ID: 4YNY, 4Y00)。図 1a に示すよう

に PA ペプチドは Met4-Asp10 を中心に分子全体で NZ-1 抗体と接し、抗原認識部位の結合ポケットにすっぽりとはまり込んでいた。また、Pro5-Gly6 配列の部分では  $\beta$  ターン構造をとっていた。Pro-Gly 配列は溶液中でも type II の  $\beta$  ターン構造を形成しやすいことが知られていることから<sup>7)</sup>、PA ペプチドは NZ-1 と結合する前から結合に最適な構造を取ることができると予想される。抗体側の特徴もそれと類似し、ペプチドが結合する前後で立体構造および水和状態の変化がほとんど見られなかった。すなわち、PA タグシステムにおいては、ペプチド側も抗体側もともに結合に伴うエントロピーの損失が非常に少ないことが結晶構造から示唆された。相互作用の親和性は結合前後のエネルギー差で決まるため、このようなエントロピー損失の少なさが、PA タグシステムが高い親和性を持つ主要な要因であると考えられた。

また、NZ-1 が U 字型に曲がった構造の PA タグを認識することは、非常に興味深い知見であった。通常、ペプチドは溶液中で特定の構造をとらず、抗体に結合する場合も比較的伸びたコンフォメーションをとっていることが多い (図 1b)。つまり、フラフラした

状態でなければ抗体に認識されにくい。ため、既存のペプチドタグは、タンパク質のフレキシブルな領域、すなわち N 末端あるいは C 末端にしか付加できない場合が多い。一方、PA タグは、NZ-1 が PA ペプチドの折れ曲がり構造を認識することから、PA ペプチドの N 末端と C 末端は抗体に認識された状態では同じ方向を向き、距離も近くなる (図 1b)。この特徴から、PA タグはタンパク質の末端だけでなく、U ターンしているループ部分へ挿入してもタグとして機能する、つまり NZ-1 に認識されることが期待された。

### 3 PA タグのループ構造への挿入

PA タグ配列をループ構造へ挿入するためのテストサンプルとして、血小板膜タンパク質であるインテグリンを選んだ。インテグリンは  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖のヘテロダイマーであり、 $\alpha$ IIb 鎖と  $\beta$ 3 鎖から構成されるインテグリン  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 は立体構造や機能解析の報告例が多く、しかも細胞外領域のみでも可溶性タンパク質として高発現することから、PA タグ挿入の効果を評価するのに適した分子である<sup>8)</sup>。まず、 $\alpha$ IIb

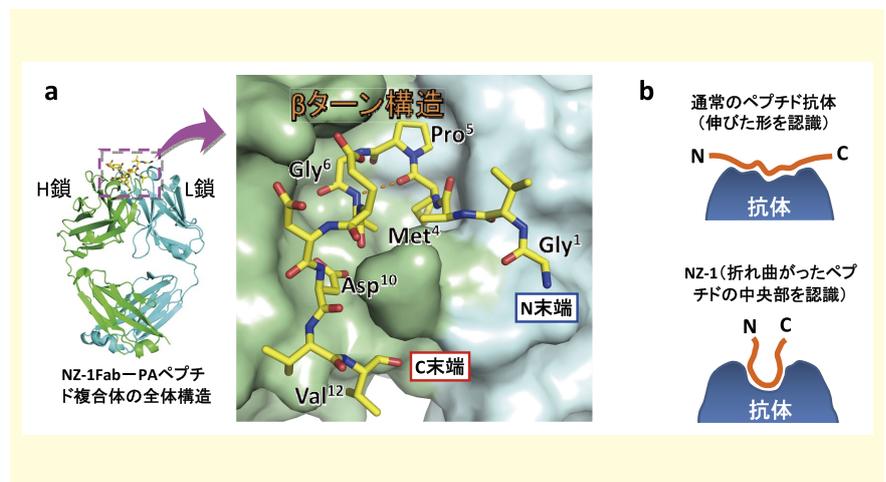


図 1. NZ-1 による PA ペプチド認識機構

(a) NZ-1 - PA ペプチド複合体の全体構造と抗原結合部の拡大図。PA ペプチド (黄色のスティックモデル) は U 字型の構造をとり、その N 末端と C 末端の距離は近い。(b) 抗ペプチド抗体によるペプチド認識モード。

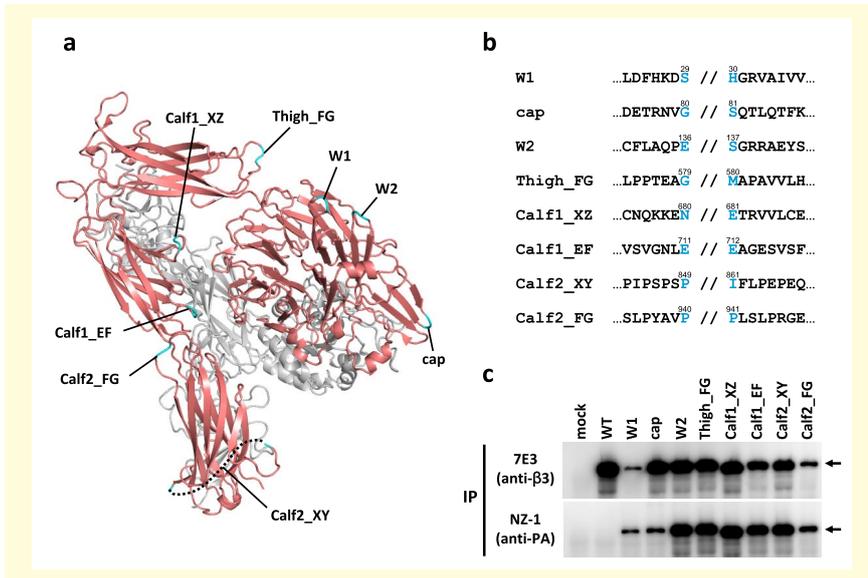


図2. インテグリンのループ領域へのPAタグの挿入  
(a) インテグリン $\alpha$ IIb (赤)  $\beta$ 3 (灰色) の細胞外領域の立体構造 (PDB ID: 3FC5)。PAタグを挿入したループ領域をシアンで示す。(b) 挿入部位付近のアミノ酸配列。12残基のPAタグは//の位置に挿入した。(c) 各PAタグ挿入変異体の、抗インテグリン抗体 (7E3、上段) および抗PAタグ抗体 (NZ-1、下段) による免疫沈降の結果。文献6より改変して転載。

鎖の分子表面に露出したループ構造 (特にターン構造) を8カ所選び、PA配列12残基を挿入した変異体を作製した (図2a, 2b)。次に、これらPAタグ挿入 $\alpha$ IIb鎖変異体を $\beta$ 3鎖と共に可溶性タンパク質として発現させたところ、NZ-1抗体および抗 $\beta$ 3鎖抗体により免疫沈降されたことから、挿入PAタグはアフィニータグとしての機能を保持しつつ、かつ、 $\beta$ 3鎖とのヘテロダイマー形成に悪影響を与えないことが示された (図2c)。同様の実験をFLAGタグやMycタグでも行ったが、これらでは (それぞれ抗FLAGタグのM2抗体および抗Mycタグの9E10抗体に対して) まったく認識されなかったことから、ループに挿入できる能力はPAタグに特有のものであると言える<sup>6)</sup>。

この挿入できる性質がどのような場合に役立つのかを考えてみると、実に様々な用途が浮かんでくる。ひとつは、単純に、ターゲット分子の末端にタグを付加できない事情がある場合である。N末端あるいはC末端残基が、

まさに機能部位であったり活性部位と隣接していたりして、タグ付加を許さないタンパク質がいくつか知られている。そのようなタンパク質の一例として、神経軸索ガイダンス因子セマフォリン3Aが挙げられる。セマフォリン3Aは両末端が活性に寄与し、また複数の受容体との結合部位を持つため、「機能に影響のないループ」を選んで挿入するという目的に適した分子である。実際、筆者らはセマフォリン3AのループにPAタグを挿入することで、高活性を持った試料の調製に成功している<sup>6)</sup>。この他にも我々はこれまでに20種以上のタンパク質へのループ挿入を検討し、うまくデザインできればPAタグは比較的自由にループへ組み込めることがわかってきた。

#### 4 挿入PAタグの分子レポーターとしての応用

ループに挿入したPAタグは、精製用タグとしてのみならず、分子の機能解析にも利用できるのではないだろう

か。はじめにターゲット分子としてインテグリン $\alpha$ IIb鎖を選択したのは前述の理由以外にも大きな理由がある。インテグリンは構造変化に伴い活性が制御される分子であり<sup>9)</sup>、非活性状態 (お辞儀構造) と活性状態 (直立構造) では構造が大きく変化する。そこで、この構造変化の前後で露出度が変化する部位にPAタグを挿入し、NZ-1の結合量の変化により構造変化をモニターできるのではと考えた (図3a)。このために、図2で用いたPAタグ挿入 $\alpha$ IIb鎖変異体のうち3種 (W2、Thigh\_FG、Calf1\_EF) を細胞膜上に発現させ、フローサイトメトリーにより解析した。これらのうち非活性状態でも分子の外側にPAタグが位置するW2およびThigh\_FGでは、インテグリンの活性化状態に関わらず同等の効率でNZ-1の結合が確認できた (図3b、W2およびThigh\_FG、青色と赤色のヒストグラム)。それに対して、PAタグがお辞儀構造の内側に位置するCalf1\_EFにおいては、未刺激時 (図3b、Calf1\_EF、青色ヒストグラム) では他と比較してNZ-1により認識されにくく、あまり分子表面に露出していないことが予想された。ところがインテグリンを活性化し起き上がらせると (図3b、Calf1\_EF、赤色ヒストグラム)、NZ-1の反応性は上昇した (ヒストグラムのピークが右シフトした)。このように、たった12残基のPAペプチド挿入により構造変化の追跡が可能となったわけである。

#### 5 おわりに

本稿では、PAタグが単なる精製用タグとしてだけでなく、分子解析ツールとして応用できる一例を示した。他にも、PAタグは使い次第で様々な解析に有用であると予想する。たとえば結晶構造解析においては、膜タンパク質などの結晶化が困難な分子の場合、フレキシブルな領域に結合する特

異抗体の断片 (Fab、単鎖抗体など) と複合体を形成させることにより結晶化を促進させる方法が主流となっているが、通常は、個々の標的タンパク質に対する抗体を取得する必要がある、多くの時間と労力を費やすことになる。しかし、PA タグシステムでは好きな場所にタグを挿入し、NZ-1 断片と複合体を形成させることで同様の効果が得られる可能性がある。これらの応用は、「高親和性」かつ「ループに挿入可能」という他にはない特異な性質を持つ PA タグシステムだからこそ出来ることである。このような特長を生かし、多くの研究分野で PA タグシステムが応用されることを期待したい。

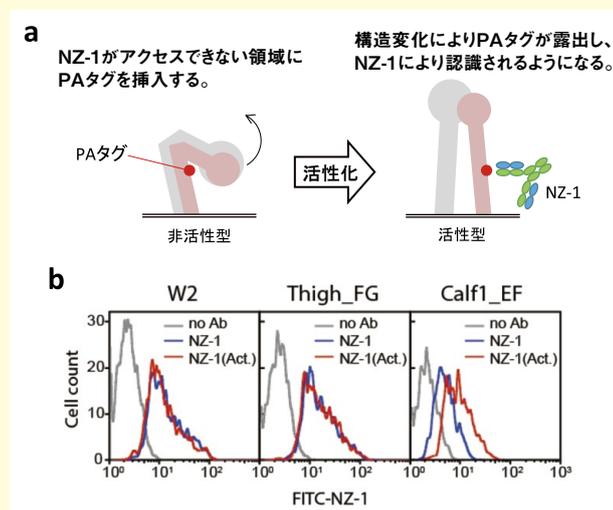


図3. インテグリンをターゲット分子とした PA タグ挿入法の活用例

(a) PA タグシステムを用いてインテグリンの構造変化をモニター。(b) 3種のインテグリン $\alpha$  IIb 鎖 PA タグ挿入変異体の非活性状態 (青) と活性状態 (赤) のフローサイトメトリーヒストグラムを示す。文献6より改変して転載。

#### 【参考文献】

- 1) Nogi, T. *et al.* : *Protein Sci.*, **17**, 2120 (2008).
- 2) Tabata, S. *et al.* : *J. Proteomics*, **73**, 1777 (2010).
- 3) Fujii, Y. *et al.* : *Protein Expr. Purif.*, **95**, 240 (2014).
- 4) 藤井勇樹 他 : 蛋白質科学会アーカイブ, **7**, e075 (2014).
- 5) Kato, Y. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **349**, 1301 (2006).
- 6) Fujii, Y. *et al.* : *J. Cell Sci.*, **129**, 1512 (2016).
- 7) Gururprasad, K. and Rajkumar, S. : *J. Biosci.*, **25**, 143 (2000).
- 8) Zhu, J. *et al.* : *Mol. Cell*, **32**, 849 (2008).
- 9) Takagi, J. *et al.* : *Cell*, **110**, 599 (2002).



#### ループ構造

ポリペプチド鎖の方向を変える折れ曲がり構造。

#### ターン構造

3~4 アミノ酸残基から成る U 字型の二次構造。2 端残基間の距離間隔や主鎖の二面角によって細分類される ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\pi$ )。 $\beta$  ターンが最も一般的。

## PA tag検出・精製用試薬



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-25861	Anti PA tag, Rat Monoclonal Antibody (NZ-1)	免疫化学用	200 $\mu$ l	30,000
012-25863			1ml	98,000
015-25951	Anti PA tag, Rat Monoclonal Antibody (NZ-1), Peroxidase conjugated	免疫化学用	200 $\mu$ l	45,000
011-25953			1ml	150,000
012-25841	Anti PA tag Antibody Beads	免疫化学用	2ml (Net 1ml)	65,000
018-25843			10ml (Net 5ml)	250,000
016-25844			50ml (Net 25ml)	照会

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
167-25501	PA tag Peptide	F <sup>o</sup> 遺伝子研究用	5mg	20,000
163-25503			25mg	80,000
169-27261	PA tag Washing Solution	遺伝子研究用	50ml	12,000

当社HPにて配列情報、Multi Cloning Site (MCS) 情報や、PA tag 発現ベクター製品をご紹介します。

[http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/PA\\_tag/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/PA_tag/index.htm)

Ⓡ<sup>o</sup>... 2~10℃保存    Ⓡ<sup>o</sup>... -20℃保存    Ⓡ<sup>o</sup>... -80℃保存    Ⓡ<sup>o</sup>... -150℃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、2017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。

## PA tag シリーズに磁気ビーズが追加 Wako MagCapture™ HP 抗 PA タグ抗体磁気ビーズ

PA tag System は、ペプチドタグ (12 アミノ酸残基) に対するラットモノクローナル抗体 (NZ-1) を使用した日本発のアフィニティー精製タグシステムです<sup>1)</sup>。NZ-1 は PA tag に対する高い親和性と特異性を持ち、免疫沈降を用いて PA tag 融合タンパク質をワンステップかつ高純度で精製可能です<sup>2)</sup>。また、ウエスタンブロットやフローサイトメトリー、免疫細胞染色に応用でき、PA tag 洗浄溶液を用いて使用済みの各ビーズを簡単に再生することも可能です<sup>1,3)</sup>。近年、PA tag と NZ-1 複合体の結晶構造が解かれ、PA tag が  $\beta$  ターン構造をとることが明らかになりました<sup>4)</sup>。この特長を応用した「膜タンパク質ループ構造への PA tag 挿入アプリケーション」も報告されています<sup>4)</sup>。

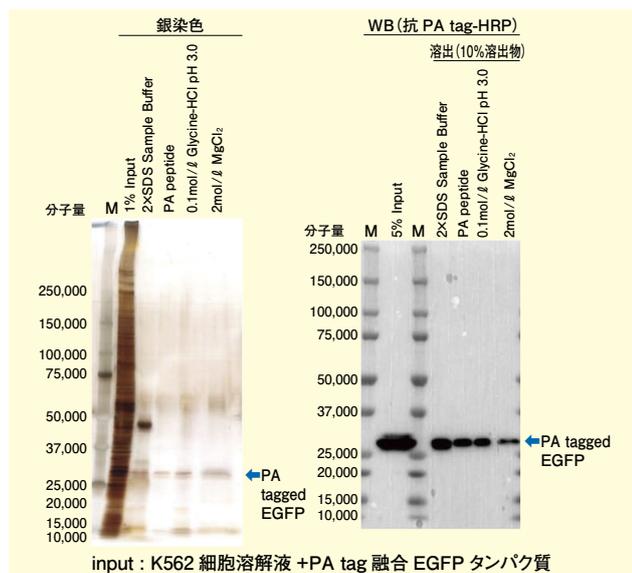
今回、新たに抗 PA tag 抗体を固定化した磁気ビーズをラインアップしました。免疫沈降法による PA tag 融合タンパク質の精製や検出にご使用下さい。

### 特長

- 非特異的結合が少ない
- PA tag ペプチドによる競合溶出、酸による溶出、2 mol/l MgCl<sub>2</sub> 溶液による溶出が可能
- 遠心操作不要
- 再生利用可能

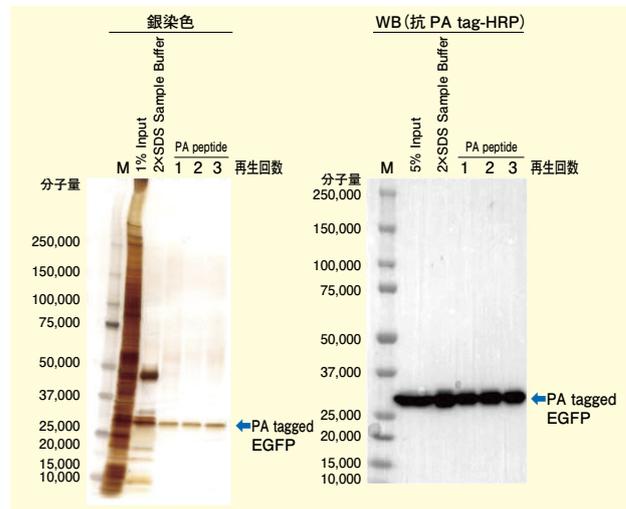
### データ

#### ■ リコンビナント PA tag 融合 EGFP タンパク質の添加回収実験



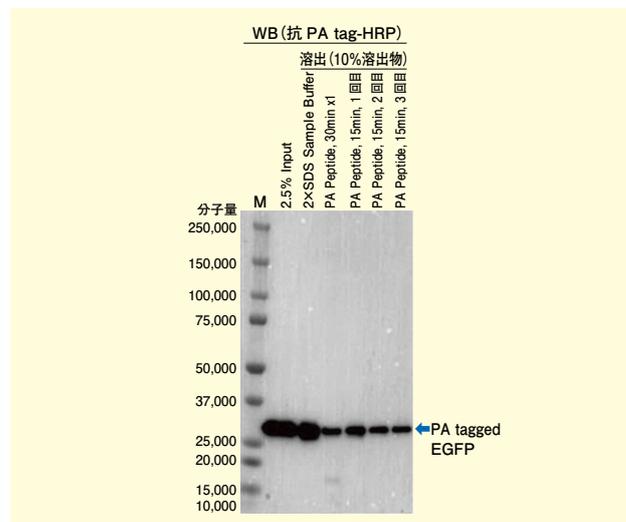
K562 細胞溶解液に添加したリコンビナント PA tag 融合 EGFP タンパク質の回収性能を確認した。その結果、各種溶出条件において高純度のリコンビナント PA tag 融合 EGFP タンパク質が精製された。

#### ■ 抗 PA tag 抗体磁気ビーズの再生実験



抗 PA tag 抗体磁気ビーズの再生利用性能を確認した。その結果、3 回再生利用しても性能の低下なくリコンビナント PA tag 融合 EGFP タンパク質を精製することができた。なお、再生には PA tag Washing Solution [コード No. 169-27261] を使用した。

#### ■ PA tag ペプチドによる競合溶出回数の検討実験



競合溶出の回数を複数回繰り返すことによって回収量の増加が可能であるか検討を行った。その結果、PA tag ペプチド競合溶出を複数回繰り返すことによって、リコンビナント PA tag 融合 EGFP タンパク質の回収量を増加できることが明らかとなった。

#### 【参考文献】

- 1) Fujii, Y. et al. : *Protein Expr. Purif.*, **95**, 240 (2014).
- 2) 藤井勇樹 他 : 蛋白質学会アーカイブ, **7**, e 075 (2014).
- 3) Kaneko, M. K. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **432**, 40 (2013).
- 4) Fujii, Y. et al. : *J. Cell Sci.*, **129**, 1512 (2016).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
137-18751	MagCapture™ HP Anti PA tag Antibody Magnetic Beads 	免疫化学用	2ml	65,000

### 1 はじめに

光学的に純粋な有機化合物は、医薬品、農薬、香料、液晶などの様々な製品に用いられている。年々、光学活性化合物の需要は高まり、環境に負荷をかけない供給法の開発が今日の重要課題の1つである。最近の金属触媒や低分子有機触媒の発展には目を見張るものがあるが、常温常圧での高いエナンチオ並びに官能基選択性、高い触媒回転率を満足するものは未だ少ない。一方、生体触媒（酵素）はこれらを可能にする。さらに、発酵によって大量生産でき、かつ、生分解されて自然に帰することができる酵素は、枯渇しない触媒として資源の乏しいわが国の今後の物質生産・変換を支える鍵になる。

多様な酵素の中でも、脂質のエステル結合を加水分解するリパーゼは、有機合成への利用が最も多い。それは、リパーゼは特に安定で、補酵素が要らず、かつ、非天然の幅広い基質に対して高い触媒活性とエナンチオ選択性を示すからである。さらに、リパーゼを有機溶媒中で用いると、カルボン酸とアルコールからエステルを形成する触媒にもなる。その際、*d*体と*l*体の2つの鏡像異性体の片方だけを選択的に反応させることができるエナンチオ選択性のために、ラセミ体を分離し光学活性体入手する速度論的光学分割に汎用されてきた（図1A）。最近では、何十種類ものリパーゼが市販されており、セライトや樹脂などに担持され粉末状になっているものが多い。このように、リパーゼは極めて使い勝手がよい生体触媒で、工業生産への適用例も多いが<sup>1)</sup>、改良の余地も有る。その1つは収率である。リパーゼはラセミ体の片方の鏡像異性体だけを反応させるために、生成物の収率は最大50%になる。反応しなかった残りの半分を再利用できれば収率100%を達成できるが、それを1つのフラスコ内で行うこ

とができれば、より実用的な変換法になる。本稿では、著者らが最近開発した『ラセミ体アルコールを光学的に純粋な化合物に収率100%で変換する動的光学分割法』について紹介する。

### 2 リパーゼ触媒による動的光学分割 (DKR) 法の背景<sup>2)</sup>

リパーゼ触媒による速度論的光学分割と並行して、反応せずに残った鏡像異性体を別の触媒によってラセミ体に戻すこと（ラセミ化）が進行すれば、最終的には、すべてのラセミ体原料を1つの光学活性体に変換することができる。この手法は動的光学分割（dynamic kinetic resolution、以下DKRと略す）と呼ばれる。DKRを成功させるためには幾つかの要件が同時に満たされなければならない（詳細は総説2）参照）が、なかでも最も難題は、酵素とラセミ化触媒が1つのフラスコ内で共存し、本来の機能を発揮できることである。ラセミ化効率を高めるために触媒の活性を上げると、リパーゼとの共存性が低下する。その理由は、ペプチドであるリパーゼがもつ官能基によって両触媒は反応して失活したり、リパーゼが触媒活性を維持するために表面に抱えている多数の水分子によってラセミ化触媒が失活することがあるためである。

現在のDKRの主流は、ルテニウム錯体とリパーゼを併用する手法である。ルテニウム錯体はアルコールの酸化-還元反応によってラセミ化を触媒する。ルテニウム錯体とリパーゼは共存性に概ね優れ、本法の適用範囲は広い<sup>2)</sup>。

### 3 著者らのDKR法と有機合成化学的応用

著者らは最近、前述のルテニウム錯体を用いる方法とは全く異なるDKR

法を開発した。以前より、オキソバナジウムエステル  $O=V(OR)_3$  はアリアルアルコールと反応して、水酸基の1,3-転位を起こすことが知られていたが、150°C以上の高温を要した<sup>3)</sup>。著者らは、この転位反応を再検討した結果（図1B）、 $O=V(OSiPh_3)_3$  **5a**<sup>4)</sup> 又は樹脂に結合したホスホン酸のオキソバナジウムエステル **5b**<sup>5)</sup> を用いると、アセトン、アセトニトリルなどの極性溶媒中、室温～50°Cでアリアルアルコール（**3**及び**4**）の1,3-転位反応が進行することを見出した。しかも、光学活性アルコールは転位の間にラセミ化することを新たに発見した。種々の実験結果から、イオン対中間体Aが生じ、その後の再結合の際にラセミ化が起こっていることがわかった。このラセミ化とリパーゼ触媒光学分割を組み合わせることでDKRが達成できた。すなわち、ラセミ体の**3**に、**5a**又は**5b**（10 mol%）、市販の固定化リパーゼ、及びアシル化剤として酢酸ビニルを反応させると、DKRが進行し光学純度90～99% eeのエステル（*R*）-**6**が収率64～99%で得られた。これは、オキソバナジウムが、ラセミ化を伴いながら4種の異性体[(*R*)-**3**, (*S*)-**3**, (*R*)-**4**, (*S*)-**4**]間の動的平衡を生じ（発散）、リパーゼがその混合物のなかから(*R*)-**3**を高選択的に変換する（収束）という相反する性質の反応が同時進行することで初めて達成された（図1B）。各触媒単独ではこの成果は得られない。また、本法では**3**の位置異性体**4**が等価な原料として利用できることが合成化学上の大きな利点である（合成化学的応用例は後述）。しかし、オキソバナジウム（**5a**, **5b**）のラセミ化能は必ずしも充分でなく、基質によってはラセミ化が遅いために生成物の収率や光学純度が低いことが問題であった。一方で、よりラセミ化能の高いオキソバナジウムを用いると、リパーゼとも反応して互いを失活させた。

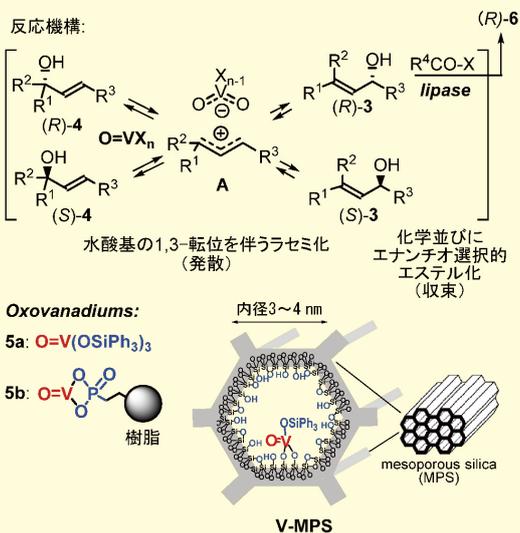
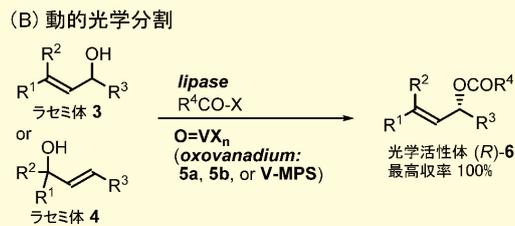
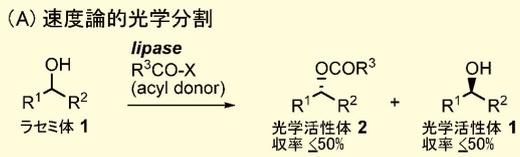


図1. (A) リパーゼ触媒速度論的光学分割 (B) オキソバナジウムとリパーゼを併用する動的光学分割

ラセミ化活性とリパーゼとの共存性を同時に向上させたラセミ化触媒を開発すべく、種々検討した結果、メソポーラスシリカ (MPS) の細孔を利用して両触媒を物理的に隔離する案に至った。MPSは二酸化ケイ素 (シリカ) を材質として、均一で規則的な細孔をもつ多孔質無機化合物で、表面積が約 1000 m<sup>2</sup>/g もある。また、細孔径が 2 ~ 50 nm の異なる種々の MPS を入手することができるが、本 DKR では細孔径 3 ~ 4 nm の MPS を利用した。MPS と 5a を有機溶媒中で 80 °C に加熱することで、細孔内表面のシラノールにバナジウムが共有結合した V-MPS (バナジウム含量 0.20 ~ 0.22

mmol/g) を調製した。その構造は ICP-AMS、元素分析、BET 法などによって図 1B のように推定している。分子量数百以下の有機化合物は V-MPS の細孔に簡単に入出りすることができるが、分子量数万ダルトン以上の巨大なリパーゼは細孔に入っていない (実際には、ポリマーや無機素材に担持された市販のリパーゼを利用するので、細孔内に入る可能性は限りなくゼロに近い)。こうして、バナジウムによる『ラセミ化の反応場』と、リパーゼによる『光学分割の反応場』が MPS の細孔によって完全に分離できる (図 2)。

新規に調製した V-MPS は、従来使

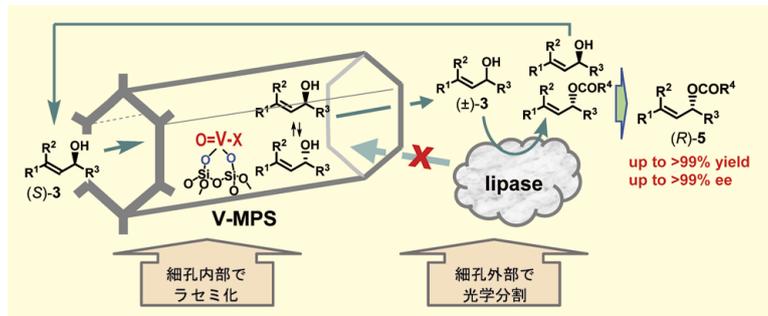


図2. MPS の細孔を利用する反応場の分離。

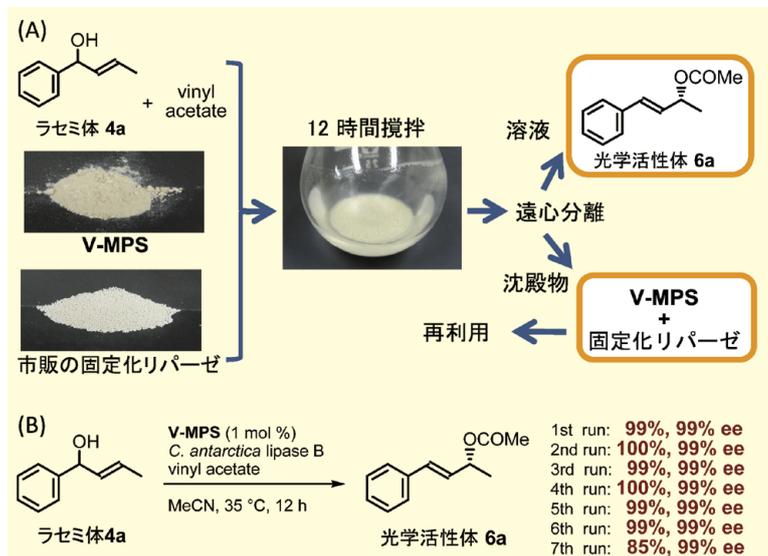


図3. (A) V-MPS と市販の固定化リパーゼを用いる DKR の概要 (B) 触媒の回収再利用の具体例

用していたラセミ化触媒 (5a, 5b) よりも格段にラセミ化活性が高いことがわかった<sup>6a)</sup>。さらに、100 nm や 400 nm の大きな細孔径を有するマクロポーラスシリカに結合したオキソバナジウムはラセミ化活性が低いことから、V-MPS のナノサイズの細孔がラセミ化の促進に極めて重要な役割を果たしていることが明らかになった<sup>6a)</sup>。

V-MPS と市販の固定化リパーゼは何れも粉末状である。これらを使ってラセミ体 4a の DKR を行った後、溶液部分と沈殿物を分離した。溶液を減圧濃縮すると、高純度の 6a が単離収率 99%、光学純度 99% ee で得られた (図 3A)。また、溶液部分に漏洩した

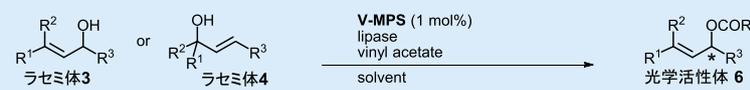
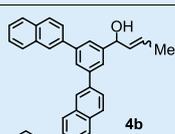
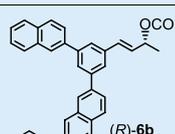
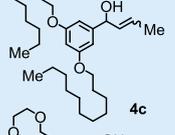
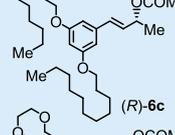
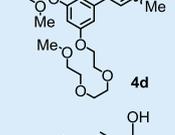
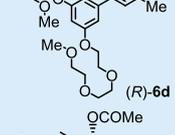
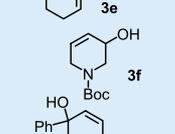
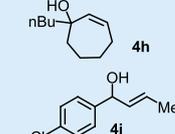
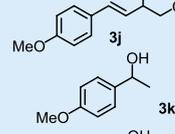
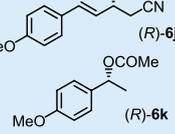
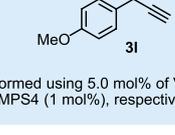
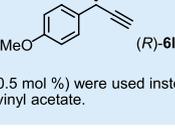
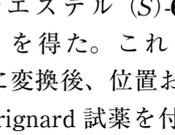
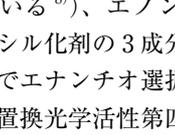
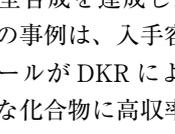
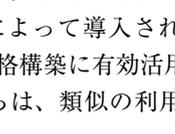
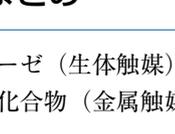
バナジウム量は0.0003%未満であった。さらに、沈殿物(V-MPSとリパーゼの混合物)を減圧乾燥後、同じ条件下、再度DKRに使用すると全く同じ結果が得られた。この、混合触媒は6回目まで全く失活することなく再利用できた(図3B)<sup>6a)</sup>。

さらに、細孔径が各々3 nm及び4 nmのMPSから調製したV-MPS3とV-MPS4を用いて、分子サイズの異なる光学活性アルコールのラセミ化速度を比較した結果、分子量200程度の小さなアルコールでは、V-MPS3とV-MPS4のラセミ化活性に差はなかったが、分子量が400を越え、また、分子長が1 nmを越えるようなアルコールになると、V-MPS4の方がラセミ化が速いことがわかった<sup>6b)</sup>。

基質アルコールに適した市販の固定化リパーゼを選択し、これとV-MPS3またはV-MPS4を併用するDKRの実施例の一部を表1に示す<sup>6b)</sup>。前述のラセミ化速度の違いを反映して、4b~4dのように比較的大きなアルコール分子では、V-MPS4を用いると、より高収率で対応するエステルが得られる(エントリー1~6)。一方、比較的小さいアルコールでは、V-MPS3とV-MPS4に殆ど差はない(エントリー7~10)。従って、一般的には、V-MPS4を用いることが推奨される。また、本法はベンジルアルコール3kやプロパルギルアルコール3lにも適用できる(エントリー15, 16)。

本DKR法の応用例を2つ挙げる(図4)。(–)-クリナンの不斉合成では、シクロヘキセノンから1工程で得られるラセミ体第三級アルコール4mに本法を適用し、アリルエステル(R)-6m(光学純度98%)を得た。続いて、Ireland-Claisen転位を行ってカルボン酸(S)-7に誘導した後、4工程の変換を行い、全合成を達成した(図4A)<sup>7)</sup>。また、(R)-インペラネンの不斉合成では、バニリンから誘導したラセミ体アリルアルコール3nに本法を適用し、

表1. V-MPSと市販の固定化リパーゼを用いるDKRの実施例

						
エントリー	ラセミ体 3, 4	反応条件	V-MPS	光学活性体 6	単離収率 (%)	光学純度 (% ee)
1 <sup>a</sup> 2 <sup>a</sup>		<i>C. antarctica</i> lipase B acetone, 50 °C, 72 h	3 4		91 >99	>99 >99
3 <sup>a</sup> 4 <sup>a</sup>		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 50 °C, 72 h	3 4		77 91	>99 >99
5 <sup>a</sup> 6 <sup>a</sup>		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 35 °C, 24 h	3 4		90 >99	98 99
7 8		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 35 °C, 24 h	3 4		94 94	95 98
9 10		<i>B. cepacia</i> lipase heptane, 35 °C, 24 h	3 4		90 87	97 96
11 <sup>b</sup>		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 35 °C, 72 h	4		97	98
12		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 60 °C, 12 h	4		93	98
13		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 35 °C, 24 h	4		97	98
14 <sup>c</sup>		<i>B. cepacia</i> lipase toluene, 35 °C, 24 h	4		81	>99
15		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 35 °C, 24 h	4		99	>99
16 <sup>c</sup>		<i>C. antarctica</i> lipase B MeCN, 50 °C, 24 h	4		92	97

a) Performed using 5.0 mol% of V-MPS. b) Vinyl decanoate and V-MPS4 (0.5 mol%) were used instead of vinyl acetate and V-MPS4 (1 mol%), respectively. c) Vinyl butyrate was used instead of vinyl acetate.

アリルエステル(S)-6n(光学純度>99%)を得た。これをエポキシド(S)-8に変換後、位置および立体選択的にGrignard試薬を付加し、脱保護を経て全合成を達成した(図4B)<sup>6a)</sup>。これらの事例は、入手容易なラセミ体アルコールがDKRによって、光学的に純粋な化合物に高収率で変換できることを示している。さらに前者は、DKRによって導入されたアシル基を分子骨格構築に有効活用した例であり(著者らは、類似の利用例を他にも報

告している<sup>8)</sup>、エノン、炭素陰イオン、アシル化剤の3成分をカルボニル炭素上でエナンチオ選択的に連結して全炭素置換光学活性第四級炭素を不斉構築する新手法として、今後の展開が期待できる。

## 4 まとめ

リパーゼ(生体触媒)とオキソバナジウム化合物(金属触媒)という異質

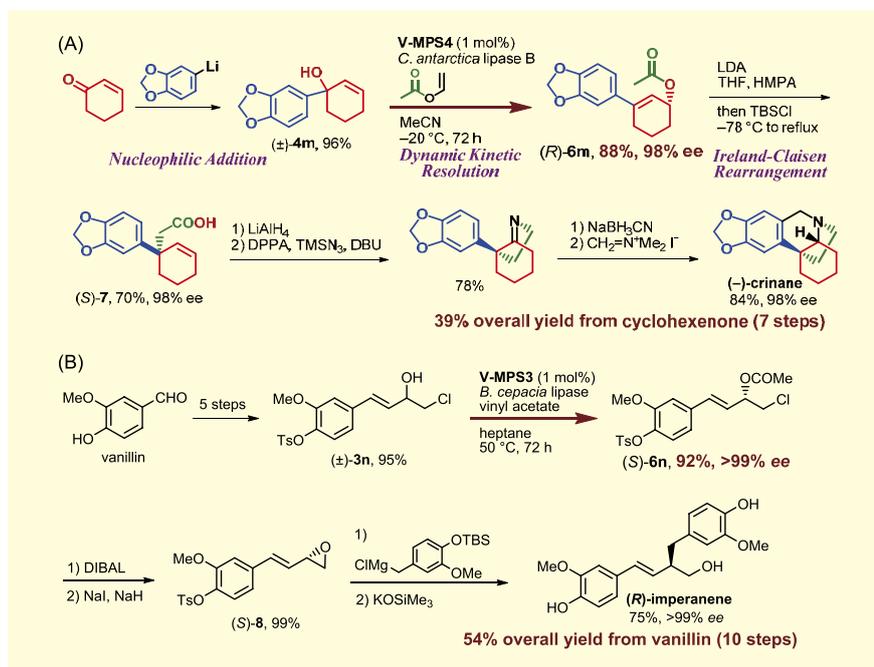


図4. V-MPS と固定化リパーゼを併用する DKR の応用 (A) (-) - クリナンの不斉全合成 (B) (R) - インペラネンの不斉全合成

な触媒を1つのフラスコ内で同時に用いることにより、入手容易なラセミ体アルコールを光学的に純粋な化合物にほぼ定量的に変換する手法を開発した。これは、オキソバナジウムが、ラセミ化を伴いながら複数の構造異性体

間の動的平衡を生じ(発散)、リパーゼがその混合物のなかから1つの鏡像異性体を高選択的に変換する(収束)という相反する性質の反応が同時進行することで初めて達成された(図1B)。また、高活性な2種類の触媒が互いに

悪影響を及ぼすことなく共存し、本来の機能を最大限に発揮するためには、メソポーラスシリカのナノスケールの細孔を利用することが極めて効果的であることもわかった。著者らは、このナノスケールの反応場の更なる活用研究を進めている。

#### 【参考文献】

- (総説) 廣瀬芳彦: 有機化誌, **69**, 506 (2011).
- (総説) (a) Akai, S.: *Chem. Lett.*, **43**, 746 (2014). (b) Takizawa, S. *et al.*: *Chem. Eur. J.*, **21**, 8992 (2015). (c) Verho, O. and Bäckvall, J.E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 3996 (2015). (d) Långvik, O. *et al.*: *ChemCatChem*, **7**, 4004 (2015).
- Chabardes, P. *et al.*: *J. Tetrahedron*, **33**, 1775 (1977).
- Akai, S. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 2592 (2006).
- Akai, S. *et al.*: *Org. Lett.*, **12**, 4900 (2010).
- (a) Egi, M. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 3654 (2013). (b) Sugiyama, K. *et al.*: *Catal. Sci. Technol.*, **6**, 5023 (2016).
- Kawanishi, S. *et al.*: *Green Chem.*, in press (2017).
- (a) Akai, S. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 1407 (2004). (b) Nemoto, H. *et al.*: *Tetrahedron*, **68**, 7295 (2012).

## 動的光学分割試薬



### V-MPS4

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
228-02341	V-MPS4	有機合成用	1g	16,000
224-02343			5g	50,000

\* V-MPS4 は湿気に対して不安定なため、不活性ガス下でご使用ください(グローブボックス推奨) \*

#### 関連商品

コード No.	品名	由来	規格 / メーカー	容量	希望納入価格(円)
632-26061	CHIRAZYME <sup>®</sup> L-2, C-4	Immobilized Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type B carrier fixed	ロシュ・ダイアグノスティクス	5g	23,400
127-06501 125-06502	Lipase PS IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth	<i>Burkholderia cepacia</i>	有機合成用	5g 25g	5,000 12,000

(p. 15) アマノリパーゼスクリーニングキットの紹介をしています。併せてご覧下さい。

## α-グルコシダーゼ活性阻害測定キットの開発

和光純薬工業株式会社 試薬化成品研究所 松井 泰子

### 概要

酵素活性を保証したα-グルコシダーゼ酵素を含む、「α-グルコシダーゼ活性阻害測定キット」(以下、キット)を開発した。別売りの「ラボアッセイ™ グルコース」と組合せることで、食品などに含まれる成分のα-グルコシダーゼ阻害作用を測定することが可能である。キット中のα-グルコシダーゼは二糖類(スクロース及びマルトース)を基質とした分解活性を保証しており、α-グルコシダーゼ阻害活性(IC<sub>50</sub>)値を測定するのに有用であると考えられる。以下に、開発経緯と特長を報告する。

### 1. 開発の背景

近年、豊かな食生活の中で、動物性食品の摂取増加のみならず、偏食や過剰栄養も手伝って、糖尿病や肥満、脂質異常症などの生活習慣病、あるいはメタボリックシンドロームの進展が深刻さを増している<sup>1)</sup>。

特に糖尿病の患者数は増加傾向にあり、平成24年の国民健康・栄養調査によると糖尿病が強く疑われる人は約950万人、糖尿病の可能性を否定できない人(予備軍)は約1,100万人と推計されている<sup>2)</sup>。

糖尿病の臨床現場で用いられている糖尿病薬の一つにα-グルコシダーゼ阻害剤がある。α-グルコシダーゼはデンプンがアミラーゼにより分解され

て生じるマルトースなどの二糖類を分解し、グルコースを生じさせ、血液中の血糖値を上昇させる。そのため、α-グルコシダーゼを阻害することは、生じるグルコース量を減らし、血糖値の上昇を抑制することができる。現在さまざまな植物よりα-グルコシダーゼ阻害物質が抽出され、血糖値の上昇を抑える食品への応用が精力的に検討されている。

これまで、α-グルコシダーゼ阻害物質についてIC<sub>50</sub>値を算出する手順についていくつか報告はあったが、測定キットなどの市販品はなかった。また、哺乳類小腸由来のα-グルコシダーゼの市販品が少なく、一部市販されている商品も活性値を保証していない製品であった。

このことから阻害活性を定量的かつ、再現性良く測定することは困難であった。このような背景の元、定量的にα-グルコシダーゼ活性阻害作用を測定できる分析用試薬の必要性が高まり、この度、キットの開発に至った。

### 2. 開発までの経緯

「キット」の開発について記述する前に、IC<sub>50</sub>値算出のために別途使用する「ラボアッセイ™ グルコース」について、その測定原理を示す(図1)。

ラボアッセイ™ グルコースの測定原理: 試料に発色液を作用させると、試料中のグルコースは発色試液中に含

まれるムタロターゼの作用によりα型からβ型へ速やかに変換される。β-D-グルコースは、グルコースオキシダーゼ(GOD)の作用を受けて酸化され、同時に過酸化水素を生じる。生成した過酸化水素は、共存するペルオキシダーゼ(POD)の作用により発色試液中のフェノールと4-アミノアンチピリンとを定量的に酸化縮合させ、赤色の色素を生成する。この赤色の吸光度を測定することにより、試料中のグルコース濃度を定量できる。

#### ・基質濃度の検討

本来GODはβ-D-グルコースにのみ反応するが、マルトースにも弱い特異性があるため、バックグラウンドを上昇させてしまい、適切に阻害作用を評価できないおそれがある。そこで、IC<sub>50</sub>値を測定する上での最適なマルトース濃度を検討した。マルトースと発色試液を30分間反応した結果、18.5mmol/l以下の場合、ブランクの吸光度が0.1以下となったため、この18.5mmol/l以下を候補濃度として採用することとした(表1)(調液方法は図3参照)。

次に、マルトース18.5mmol/l以下で酵素反応性を調べた結果、2時間以上酵素活性を持続する基質濃度は18.5mmol/lであったため、最終的なマルトース濃度を18.5mmol/lとした(図2)。

表1. マルトース濃度の検討

マルトース濃度(mmol/l)	0	7.4	18.5	37	74
吸光度(A <sub>505</sub> )	0.036	0.057	0.099	0.183	0.337

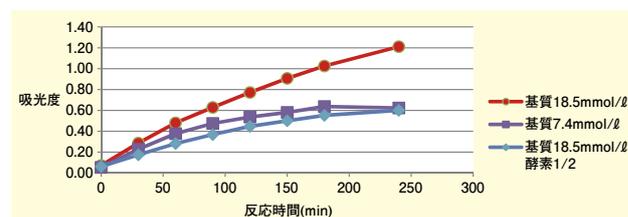


図2. 酵素反応曲線

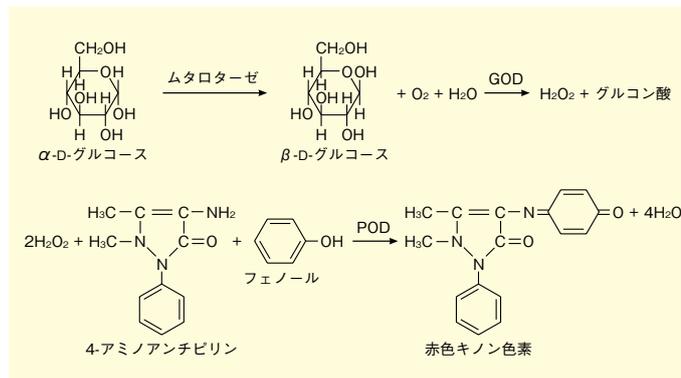


図1. ラボアッセイグルコースの測定原理

・酵素剤によるばらつき低減検討

キットに含まれる酵素剤はラット小腸由来刷子縁膜から採取し、遠心分離により最適な画分を取得した懸濁液である。粒子径が大きいとすぐに沈殿してしまい、測定者が採取する時に、測定値がばらつく原因になる。そこで、キットに含まれる酵素剤はすぐに沈殿しないよう粒子径を小さくするための製造方法を取り、測定値がばらつかないようにした。表2に阻害剤としてアカルボースを用いて3回試験した結果を示す（調液方法は図3参照）。

表2. アカルボースのIC<sub>50</sub>値

基質	IC <sub>50</sub> 値 (μg/ml)	CV値 (%)
マルトース	0.10	1.8
スクロース	1.28	0.9

3. キットプロトコール

「キット」中の基質（マルトース、スクロース）溶液に段階希釈した測定試料（α-グルコシダーゼ阻害物質）溶液及び同じく「キット」中のα-グルコシダーゼ懸濁液を添加し37℃で反応させた後、沸騰水浴中で加熱し反

<サンプル調製>



<ブランク調製>

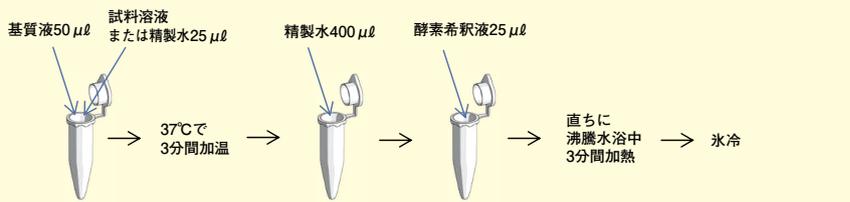


図3. キットプロトコール

基質液や酵素希釈液などの調製方法詳細は商品添付の取扱説明書でご確認下さい。

応を停止させ、遊離したグルコースを「ラボアッセイ™ グルコース」を用いて定量し、測定試料のIC<sub>50</sub>値を算出する（図3）。

4. 最後に

本キットの開発によりα-グルコシダーゼ阻害物質のIC<sub>50</sub>値測定が可能となった。今後、本キットがさまざま

な機能性食品の開発や探索の一助となることを期待している。

【参考文献】

- 1) 森川敏生：科学研究費助成事業 研究成果報告書，課題番号 24590037，研究期間 2012～2014。“Search for new metabolic syndrome therapeutic candidates from Thai natural medicines”
- 2) 厚生労働省：平成24年国民健康・栄養調査報告（2012）。

α-グルコシダーゼ活性阻害測定キット



キット構成

- 酵素剤（α-グルコシダーゼ）…………… 1 ml × 2
- 緩衝剤（マレイン酸/マレイン酸二ナトリウム）… 50 ml 用 × 2
- 基質1（D-(+)-マルトース）…………… 20 ml 用 × 2
- 基質2（スクロース）…………… 20 ml 用 × 2
- ポジティブコントロール（アカルボース）… 100 mg × 1

<キット以外に必要な器具・器材>

- ・ ラボアッセイ™ グルコース [コードNo. 298-65701]
- ・ 96ウエルの透明マイクロプレート
- ・ プレートリーダー（505 nm 吸光フィルター）
- ・ マイクロピペット
- ・ 恒温槽（37℃）

α-グルコシダーゼ活性阻害測定キット

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
297-78601	α-Glucosidase Inhibitory Activity Assay Kit	食品分析用	96回用	120,000

関連商品

グルコース定量用キット

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-65701	LabAssay™ Glucose	細胞生物学用	1,000回用	26,000



α-グルコシダーゼ活性阻害測定キット

RF…2～10℃保存 F…20℃保存 30…80℃保存 50…150℃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、2017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。

## 新規アフィニティーエクソソーム精製法とエクソソーム高感度検出への応用

和光純薬工業株式会社 ライフサイエンス研究所 今若 直子

### はじめに

エクソソームとは、さまざまな細胞から放出される直径 30-100nm の膜小胞であり、エクソソームが内包する mRNA、microRNA などの核酸やタンパク質を離れた細胞に受け渡す機能を有することが明らかとなっており、細胞間情報伝達におけるコミュニケーションツールとしての役割やがんを含むさまざまな疾患におけるバイオマーカーとして関心が高まっている<sup>1,2)</sup>。それ故、ここ数年でさまざまな研究分野においてエクソソーム研究が広がってきているが、現状のエクソソーム実験技術は発展途上であり、改善すべき課題が多く存在する。例えば、エクソソーム精製方法において、超遠心分離やポリマー沈殿法（市販キット）では、多くの夾雑物が混入することにより、後の実験に多大な支障を生じることが明らかとなっている。一方、抗体アフィニティーや密度勾配遠心を用いた方法では、高純度なエクソソームの精製は可能であるものの、インタクトな状態のエクソソームを精製することができず、エクソソームが持つ本来の

生理機能を解析できないといった問題点があげられる。さらに、エクソソームを検出する方法としては、ウエスタンブロットや ELISA が広く一般的に用いられるが、多量のエクソソームを必要とすることや発現量の少ないマーカータンパク質の検出が困難であるといった問題点が生じている。

そこで本稿では、これらエクソソーム実験技術におけるさまざまな課題を解決するために我々が新たに開発した新規エクソソーム解析ツールについて説明する。

### ホスファチジルセリンアフィニティーを用いた新規エクソソーム精製法

エクソソーム膜は分泌細胞由来のタンパク質や脂質を含んでいるが、その中でもホスファチジルセリン (PS) は、生細胞ではフリッパーゼという酵素の働きによって細胞膜の内側に配向しているのに対して、エクソソームでは膜の外側にも露出していることが知られている<sup>3)</sup>。また、マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食受容体として知られる T-cell immunoglobulin

domain and mucin domain-containing protein 4 (Tim4) タンパク質は、細胞外領域にある IgV ドメインを介してカルシウムイオン依存的に PS と結合することがわかっている<sup>4)</sup>。以上の知見をもとに、我々は Tim4 を固相化した磁気ビーズを用い、カルシウムイオン存在下で培養上清や血清などのサンプル中のエクソソームを捕捉し、キレート剤を添加することによってエクソソームを精製することができる、既存の手法とは一線を画す新たなエクソソーム精製法を金沢大学医学系免疫学の華山教授と共同で開発し、キット化に成功した<sup>5)</sup>。なお、このエクソソーム精製キットである MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS は、従来のエクソソーム精製法よりも高純度なエクソソームをインタクトな状態で簡便に精製することを実現しており、これまでゴールドスタンダードとされてきた超遠心法に置き換わる新たなエクソソーム精製法として確立されつつある (図 1)。

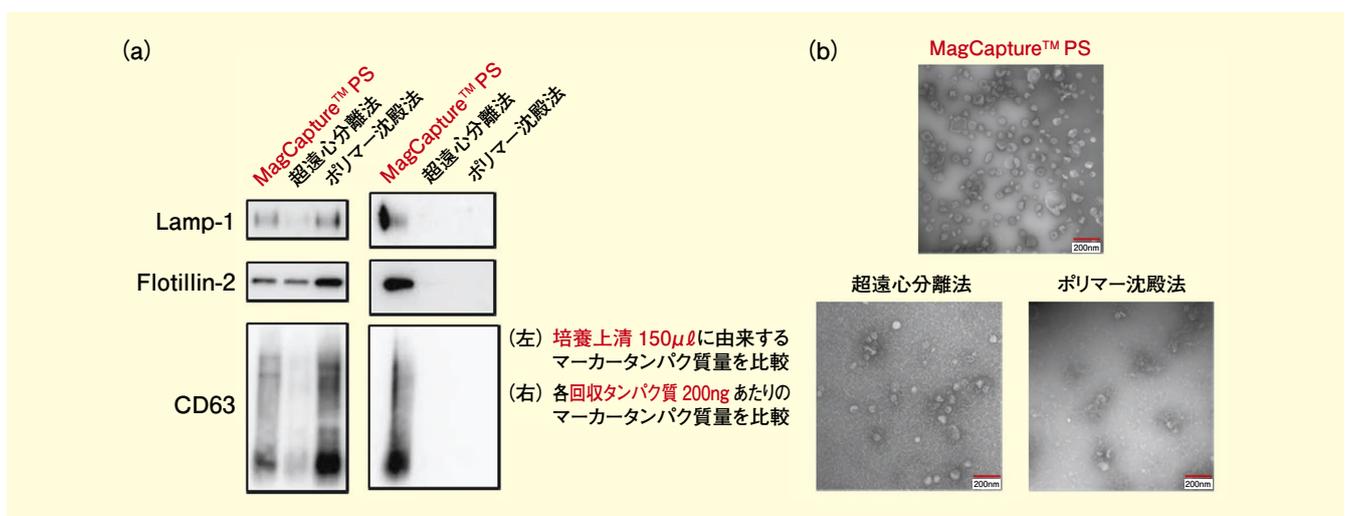


図 1. MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS と従来の精製法の比較

- (a) 各方法で精製したエクソソームのウエスタンブロット比較  
MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS、超遠心分離法、ポリマー沈殿法を用いて K562 細胞培養上清から精製したエクソソームをそれぞれエクソソームマーカータンパク質である Lamp-1、Flotillin-2、CD63 抗体で検出した。
- (b) 各方法で精製したエクソソームの電子顕微鏡写真  
MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS、超遠心分離法、ポリマー沈殿法を用いて K562 細胞培養上清から精製したエクソソームを電子顕微鏡で検出した。

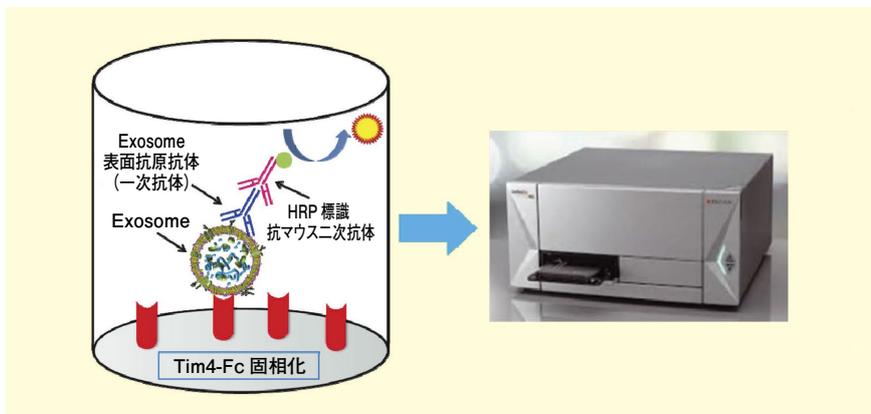


図2. Exosome ELISA キット原理図

## PS Capture™ Exosome ELISA Kitの特長と使用例

今回我々は、Tim4 タンパク質がPSを介してエクソソームとアフィニティー結合する仕組みをELISAに応用し、PS Capture™ Exosome ELISA Kitを開発した。本キットは、エクソソーム表面マーカー抗体を固相化する従来のELISA法より高感度にエクソソームを検出することができる。方法としては、Tim4 タンパク質を固相化したドライプレートに培養上清や血清などのエクソソーム含有サンプルを添加し、カルシウムイオン存在下でエクソソームを捕捉させ、エクソソーム表面マーカータンパク質に対する一次抗体反応及び二次抗体によりエクソソーム検出を行う(図2)。なお、キットにはマウス抗CD63モノクローナル抗体を一次抗体として添付しているが、それ以外のエクソソーム表面マーカーを測定するのであれば、マウス由来の一次抗体を用意することでエクソソームの検出が可能である。

本キットの最大の特長は、ウエスタンブロットや既存のExosome ELISA製品よりも高感度なエクソソーム検出を実現していることである。まず始めに、本キットとウエスタンブロットの検出感度を比較するために、ウエスタンブロットにおけるエクソソーム検出限界を調べた(図3a)。結果、ヒト結

腸腺がん細胞であるCOLO201細胞由来精製エクソソームをサンプルに用いて抗CD63モノクローナル抗体によるウエスタンブロットを行ったところ、タンパク質量で75ngのエクソソームまで検出できた。次に、本キットを用いて白血病由来細胞株であるK562細胞及びCOLO201細胞由来精製エクソソームのELISA検出限界を調べたところ、K562細胞由来精製エクソソームの検出限界が49.9pg、COLO201細胞由来精製エクソソームの検出限界が10.9pgであり、ウエスタンブロットの実に1,000倍以上の検出感度を有す

ることが明らかとなった(図3b)。また、既存のExosome ELISA製品の感度が、数ng~数μg程度(各製品マニュアルなど参照)であることから、Tim4タンパク質とPSを介したアフィニティー結合を利用した本キットは、従来のエクソソーム表面マーカー抗体を固相化するELISA法と比較して100倍以上高感度であることが示された。

最後に、本キットの使用例として各種細胞由来エクソソームの表面マーカータンパク質の発現プロファイリングを行った。13種類の細胞培養上清からエクソソームを精製し、各精製エクソソーム1ngを用いて、エクソソームマーカータンパク質であるCD9、CD63、CD81抗体によるELISA検出を行った(図4)。その結果、各エクソソームにおけるマーカータンパク質の存在比は由来細胞ごとに異なっていることが明らかとなった。ある種の細胞株では特定のマーカータンパク質が存在しないエクソソームを分泌しており、エクソソームのheterogeneityの高さを鮮明とするデータが、本キットを用いたELISAにより明らかにされた。

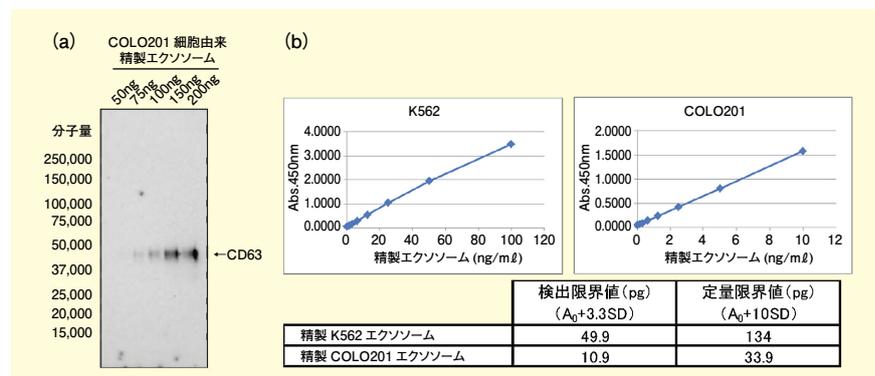


図3. ウエスタンブロットとELISAの検出感度比較

- (a) エクソソームのウエスタンブロット検出感度検討  
COLO201細胞由来精製エクソソーム (MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS使用) をそれぞれ50、75、100、150、200ng電気泳動し、抗CD63抗体でウエスタンブロット検出した。
- (b) Exosome ELISA 検出限界値検討  
本キットを用いてK562細胞及びCOLO201細胞由来精製エクソソーム (MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS使用) を段階希釈したサンプル及びバッファーのみのブランク値の活性を測定し、その結果を基に各サンプルの最低検出感度を算出した(各濃度ポイントはn=6で、 $A_0$ ポイントはn=12で測定した)。

## おわりに

以上のように、Tim4 タンパク質の PS アフィニティー性能を利用した MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS は、従来法より高純度かつ簡便にエクソソーム精製を実現し、PSCapture™ Exosome ELISA Kit は、高感度なエクソソーム検出を可能とする画期的な製品である。そのため、本キットを用いることにより、従来法では不純物の混入により見逃されていたエクソソーム中のマーカータンパク質の同定や、これまでウエスタンブロットや既存の Exosome ELISA 製品では検出が困難であった微量な表面マーカーを検出できる可能性が期待される。今後も当社では Tim4 タンパク質の PS アフィニティー性能を利用したエクソソーム研究関連試薬を開発する予定であり、それら製品がエクソソーム研究の発展に貢献できることを切に願う。

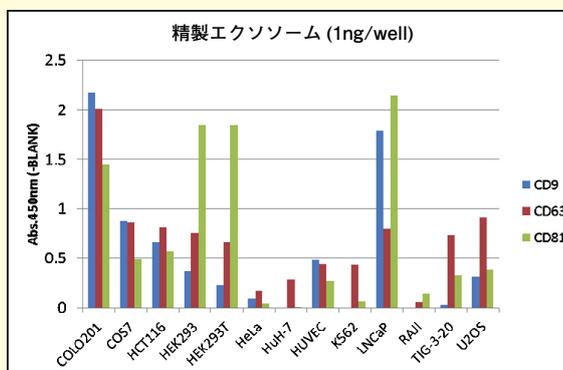


図4. 各種細胞のエクソソームマーカータンパク質発現解析

各種細胞の培養上清由来精製エクソソーム (MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS 使用) を 1ng ずつ用い、エクソソームマーカータンパク質 CD9、CD63、CD81 に対する抗体を用いて ELISA 検出した。

## 【参考文献】

- 1) Tkach, M. *et al.* : *Cell*, **164**, 1226 (2016).
- 2) Raimondo, F. *et al.* : *Proteomics*, **11**, 709 (2011).
- 3) Trajkovic, K. *et al.* : *Science*, **319** (5867), 1244 (2008).
- 4) Miyanishi, M. *et al.* : *Nature*, **450**, 435 (2007).
- 5) Nakai, W. *et al.* : *Sci. Rep.*, **6**, 33935 (2016).

## 新規アフィニティー法によるエクソソーム単離キット & ELISAキット

### MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS PS Capture™ エクソソーム ELISA キット (Anti Mouse IgG POD)

#### ■ アイソレーションキット

##### キット構成

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

#### ■ ELISAキット

##### キット構成

- Exosome Capture 96 Well Plate ..... 1 枚
- Plate Seal ..... 4 枚
- Reaction/Washing Buffer (10  $\times$ ) ..... 50ml  $\times$  2 本
- Exosome Binding Enhancer (100  $\times$ ) 10ml  $\times$  1 本
- Control Primary Antibody Anti CD63 (100  $\times$ ) ..... 120  $\mu$ l  $\times$  1 本
- Secondary Antibody HRP-conjugated Anti Mouse IgG (100  $\times$ ) ..... 120  $\mu$ l  $\times$  1 本
- TMB Solution ..... 12ml  $\times$  1 本
- Stop Solution ..... 12ml  $\times$  1 本

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
293-77601	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	Ref <sup>2</sup> 遺伝子研究用	10回用	80,000
297-79201	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD)	Ref <sup>2</sup> 遺伝子研究用	96回用	58,000

Ref<sup>1</sup>... 2 ~ 10℃保存 Ref<sup>2</sup>... -20℃保存 Ref<sup>3</sup>... -80℃保存 Ref<sup>4</sup>... -150℃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、2017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。

## お得なセット 発売開始 アマノリパーゼスクリーニングセット

生体触媒の利用は、『不要なものを出さない・作らない』というグリーンケミストリーの観点から注目されており、光学活性な化合物を容易に得るための便利な手法の一つです。生体触媒のリパーゼは、エステル結合に作用する酵素であり、優れた不斉認識能を示すことから不斉合成に利用されます。

本品は、酵素メーカーである天野エンザイム社製の『アマノリパーゼ』です。この度、リパーゼ6種のスクリーニングセットを発売しました。酵素触媒を使った反応条件の検討にご利用下さい。

### セット構成

- Lipase AK Amano ..... 10g × 1
- Lipase AS Amano ..... 10g × 1
- Lipase AYS Amano ..... 10g × 1
- Lipase G Amano 50 ..... 10g × 1
- Lipase PS Amano SD ..... 10g × 1
- Lipase PS IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth ..... 5g × 1

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-26831	Amano Lipase Screening Set (Contains 6 Lipase)	有機合成用 	1セット	28,000

### 関連商品

コード No.	品名	由来	活性	規格	容量	希望納入価格(円)
125-06541	Lipase AK Amano 	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	≥ 20,000 FIP units/g	有機合成用	10g	6,500
121-06543				有機合成用	50g	18,500
129-06561	Lipase AS Amano 	<i>Aspergillus niger</i>	≥ 12,000 units/g	有機合成用	10g	6,000
125-06563				有機合成用	50g	13,000
122-06551	Lipase AYS Amano 	<i>Candida cylindracea</i>	≥ 30,000 units/g	有機合成用	10g	4,500
128-06553				有機合成用	50g	10,500
121-06521	Lipase G Amano 50 	<i>Penicillium camemberti</i>	≥ 50,000 units/g	有機合成用	10g	7,500
127-06523				有機合成用	50g	16,000
128-06531	Lipase PS Amano SD 	<i>Burkholderia cepacia</i>	≥ 23,000 FIP units/g	有機合成用	10g	5,500
124-06533				有機合成用	50g	14,000
127-06501	Lipase PS IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth 	<i>Burkholderia cepacia</i>	≥ 500 units/g	有機合成用	5g	5,000
125-06502				有機合成用	25g	12,000

リパーゼの基本反応や、アマノリパーゼの反応例を当社HPに掲載していますのでご覧ください。

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

## 有機合成用 酵素反応パンフレット発行

酵素反応の実験方法や酵素の選択方法について掲載していますのでご利用下さい。

ご希望の方は、当社営業員または、代理店にお問合せ下さい。



### [掲載内容]

- ◆ 酵素反応の概要
- ◆ 酵素触媒反応例
  - ・リパーゼ
  - ・エステラーゼ
  - ・プロテアーゼ
  - ・D-アミノアシラーゼ
  - ・ヘム結合タンパク質

大阪大学 赤井 周司教授が開発された酵素共触媒「V-MPS4」を掲載しています。目的のエナンチオマーを収率100%で合成する新手法です。アマノリパーゼと併用してご利用頂けます。

パンフレットは、当社HPでもご覧頂けます。

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

 V-MPS4に関する総説 (p.6~) も併せてご覧下さい。

 2~10℃保存  20℃保存  80℃保存  150℃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、2017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。

## N.E. CHEMCAT 社製



### 選択的還元触媒

世界的な Pd/C の供給メーカーである N.E. CHEMCAT 社の選択的還元触媒を 3 品目、カップリング触媒を 1 品目ラインアップしました。

### 還元触媒

#### Pd/BN, NEb-0.3DR (Pd 0.3%)

本品は、リンドラー触媒の代替品です。

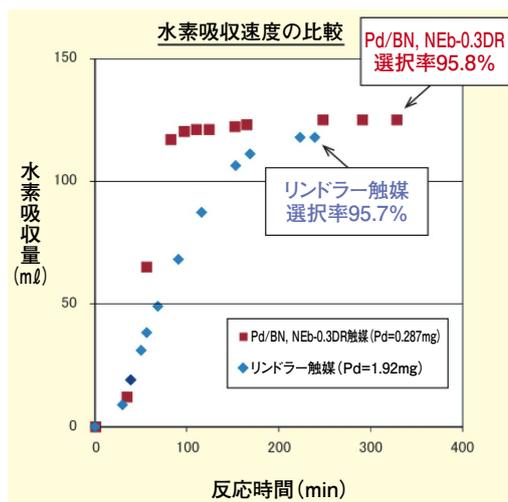
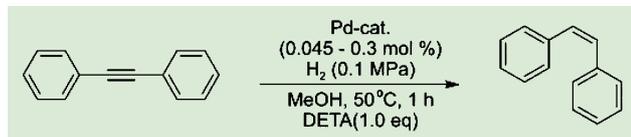
### 特長

- アルキンをアルケンに選択的に変換
- 鉛フリーのため毒性が低い
- リンドラー触媒と比較し、反応速度が15倍速い
- Pd使用量を1/6に低減

### データ

#### ■ リンドラー触媒との性能比較

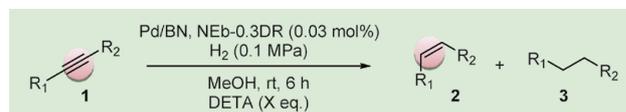
#### 〈モデル反応〉



#### 水素吸収速度から算出した反応速度

Entry	触媒	Pd量 (mg)	反応時間 (min)	水素吸収 (ml)	溶媒量 (ml)	反応速度 [mmol/(l・h・mg-Pd)]
1	Pd/BN, NEb-0.3DR 触媒	0.287	97	120	50	231
2	リンドラー触媒	1.916	223	118	50	15

### 反応例



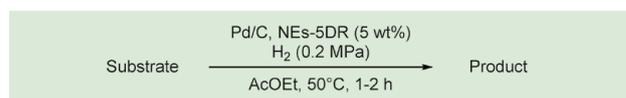
Entry	Product	X eq.	Ratio (1 : 2 : 3)	Yield (%)
1		1	0 : 100 : 0	98%
2		1	0 : 100 : 0	96%
3		1	0 : 99 : 1	96%
4		1	0 : 100 : 0	99%

#### ■ Pd/C, NEs-5DR (Pd 5%) (含水)

### 特長

- オレフィンや、ベンジル位水酸基を還元
- 共存するベンジル基、芳香族ケトンなどを特異的に制御
- 含水品のため、発火のリスクが低い

### 反応例



Entry	Substrate	Product	Yield (%)
1			97%
2			99%
3			98%
4			99%

#### ■ Pt/C, STAF-1M (Pt 1%) (含水)

### 特長

- 芳香族ニトロ基を選択的に還元
- 脱ハロゲン化反応を特異的に制御
- 含水品のため発火のリスクが低い

[次頁に続く]

## 反応例

$\text{Substrate} \xrightarrow[\text{MeOH, rt, Time (h)}]{\text{Pt/C, STAF-1M (5 wt\%)}, \text{H}_2 (0.2 \text{ MPa})}$  Product

Entry	Substrate	Product	Time (h)	Yield (%)	Selectivity (%)
1			1 h	100%	97%
2			1.5 h	100%	98%
3			1 h	100%	>99%
4			1 h	100%	>99%

## ■ カップリング触媒

### ■ Pd/SiO<sub>2</sub>, PL 触媒

## 特長

- Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> と同等以上の触媒活性
- Pd 使用量を最大 1/8 まで軽減可能
- 錯体触媒と比較して、Pd 溶出が少ない

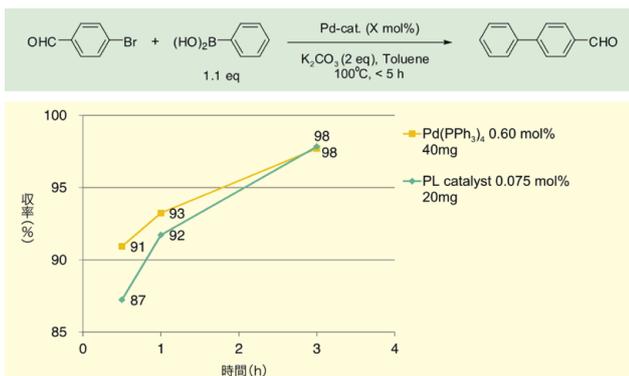
## 〈モデル反応〉

$\text{C}_6\text{H}_5\text{B(OH)}_2 + \text{Br-C}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{Et} \xrightarrow[\text{Conditions}]{\text{Pd catalyst}}$

Catalyst	Pd Cat. (mol%)	Conditions	Time (h)	Yield (%)	Leaching-Pd (mg/ℓ)
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	0.30	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> Toluene	3	94%	70
PL catalyst		100°C		93%	<0.25

## データ

### ■ Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> との性能比較



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 168-27971	Pd/BN, NEb-0.3DR (Pd 0.3%)	有機合成用	5g	6,500
NEW 166-27972			25g	18,000
NEW 163-27921	Pd/C, NEs-5DR (Pd 5%) (wetted with water) <sup>Ref</sup>	有機合成用	5g	8,000
NEW 161-27922			25g	26,000
NEW 166-28011	Pt/C, STAF-1M (Pt 1%) (wetted with water) <sup>Ref</sup>	有機合成用	5g	10,000
NEW 164-28012			25g	35,000
NEW 160-27931	Pd/SiO <sub>2</sub> , PL Catalyst	有機合成用	5g	10,000
NEW 168-27932			25g	35,000

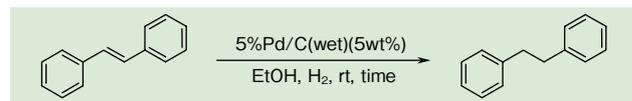
## 関連商品

### Pd/c, NXタイプ(含水)

接触還元によく用いられる N.E. CHEMCAT 社のパラジウム-カーボン (Pd/C) を多数取り揃えています。いずれの触媒も発火のリスクの低い含水タイプでありながら、反応活性の高い触媒です。

## データ

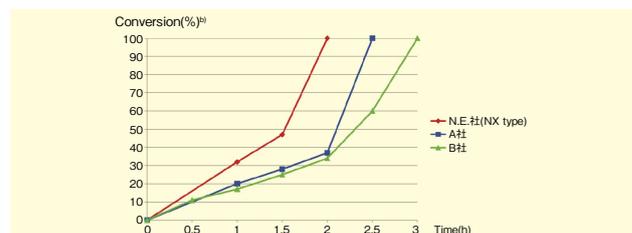
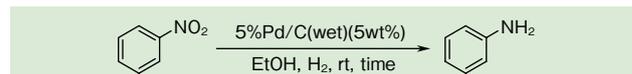
### ■ オレフィンの還元反応



5% Pd/C (wet)	ratio <sup>a</sup> (SM : product)	
	30 min.	1 h
N.E. 社 (NX type)	1 : 99	—
A 社	58 : 42	0 : 100
B 社	39 : 61	0 : 100

a) Ratio was determined by <sup>1</sup>H-NMR

### ■ ニトロ基 (芳香族) の還元反応



b) Conversion was determined by HPLC

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
165-27001	Pd/C, type NX (Pd 5%) (wetted with water) <sup>Ref</sup>	有機合成用	5g	5,000
163-27002			25g	15,000
161-27003			100g	47,000
162-27011	Pd/C, type NX (Pd 10%) (wetted with water) <sup>Ref</sup>	有機合成用	5g	6,500
160-27012			25g	19,000
168-27013			100g	62,000
169-27021	Pd/C, type NX (Pd 20%) (wetted with water) <sup>Ref</sup>	有機合成用	5g	9,000
167-27022			25g	29,000
165-27023			100g	100,000

その他、多数取り揃えています。当社 HP にて、ご覧下さい。

[http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/chemical/ne\\_chemcat/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/chemical/ne_chemcat/index.htm)

## 精密重合試薬



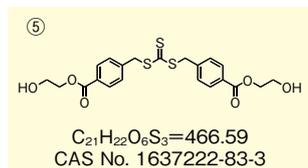
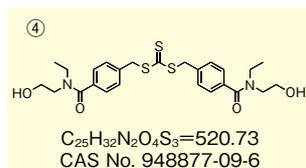
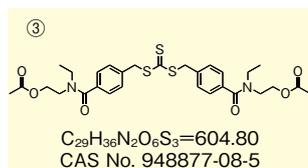
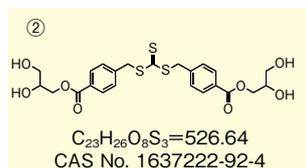
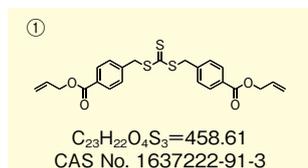
### 両末端反応型 RAFT 剤

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 (RAFT 剤) です。RAFT 重合は、分子量の分布範囲が狭いポリマーの合成に有効な重合法です。この度、両末端に反応性基を有する二官能性 RAFT 剤を追加しました。ブロック共重合体や末端反応性ポリマーの合成にご利用下さい。

#### 特長

- 分子量の分布範囲が狭いポリマーを合成可能
- 適した RAFT 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
- 両末端反応型の RAFT 剤を用いて得られるポリマーは、鎖延長反応や架橋反応、ブロック共重合体合成に利用可能

#### 反応例



#### 【参考文献】

- 1) Sudo, A., Hamaguchi, T., Aoyagi, N. and Endo, T.: *Polym. Chem.*, **51**, 318 (2013).

No.	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
①	024-18991	Bis[4-(allyloxycarbonyl)benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	1g	9,000
	020-18993			5g	30,000
②	023-18961	Bis[4-(2,3-dihydroxypropoxycarbonyl)benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	1g	9,000
	029-18963			5g	30,000
③	020-18971	Bis[4-[ethyl-(2-acetyloxyethyl)carbamoyl]benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	1g	14,000
	026-18973			5g	38,000

No.	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
④	029-17961	Bis[4-[ethyl-(2-hydroxyethyl)carbamoyl]benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	5g	7,000
	027-17962			25g	16,000
⑤	027-18981	Bis[4-(2-hydroxyethoxycarbonyl)benzyl] Trithiocarbonate	有機合成用	1g	9,000
	023-18983			5g	30,000

上記以外に RAFT 剤を取り揃えております。当社 HP をご覧下さい。

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

## タイプ S 新登場



### 中圧分取 / フラッシュクロマト用カラム Presep®

プレセップ® 分取用カラムシリーズはポリプロピレン製のシリンジカラムに高品質のクロマト用担体を充てんしたパックドカラムです。充てん量が異なる 5 種類のサイズ (M・L・2L・3L・4L) に S サイズを追加しました。S サイズは、分取条件の検討や少量サンプルの分取に最適です。

シリンジサイズ	サイズ (mm × mm)	カラムポリウム CV(ml)	推奨流速 (ml/min)
Type S	15 × 65	7	5 ~ 10
Type M	20 × 60	15	10 ~ 40
Type L	27 × 100	40	20 ~ 40
Type 2L	27 × 140	60	20 ~ 40
Type 3L	46 × 110	145	40 ~ 80
Type 4L	46 × 220	290	40 ~ 80

#### 充てん剤の物性

No.	形状	細孔径 (nm)	細孔容量 (ml/g)	比表面積 (m <sup>2</sup> /g)	pH
①	球状	3	0.6	780	6.5-7.5
②	破碎状	7	0.8	450	5.5-7.5
③	球状	4.5	1.0	900	8.5-11.5
④	破碎状	6	0.85	550	6.5-7.5
⑤	破碎状	6.7	0.72	432	10

No.	コード No.	品名	カラム容量 参考値	容量	希望納入価格 (円)
①	297-35481	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (HC-N) Type S	8g/ 15ml	10本×2袋	照会
	10本×10袋			照会	
②	293-35461	Presep® (Luer Lock) Silica Gel Type S	7g/ 15ml	10本×2袋	照会
	299-35463			10本×10袋	
③	294-35491	Presep® (Luer Lock) NH <sub>2</sub> (HC) Type S	7g/ 15ml	10本×2袋	照会
	293-35483			10本×10袋	
④	290-35471	Presep® (Luer Lock) Silica Gel (for Loading) Type S	7g/ 15ml	10本×2袋	9,000
	296-35473			10本×10袋	
⑤	294-35511	Presep® (Luer Lock) NH <sub>2</sub> (for Loading) Type S	8g/ 15ml	10本×2袋	14,000
	290-35513			10本×10袋	

分取カラムの接続には別途アダプターが必要です。お問合せ下さい。分取用カラム Presep® (Luer Lock) シリーズの詳細は当社 HP をご覧下さい。

[http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromatol/article/presep\\_cat.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromatol/article/presep_cat.htm)

## 品目追加



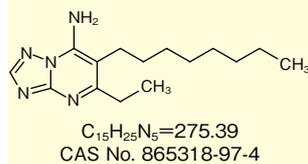
### ポジティブリスト関連標準品

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

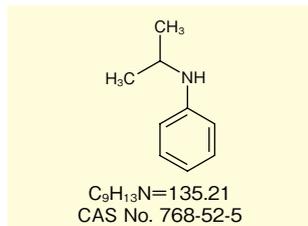
##### ■ アメトクトラジン標準品

化学名: 5-Ethyl-6-octyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-amine  
 含量 (HPLC): 98.0% 以上  
 外 観: 白色~わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末~粉末  
 備 考: 殺菌剤



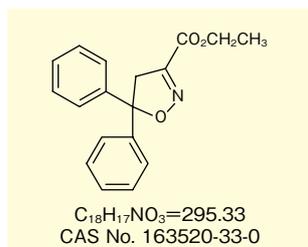
##### ■ N-イソプロピルアニリン標準品

化学名: N-(1-Methylethyl)phenylamine  
 含量 (cGC): 99.0% 以上  
 外 観: うすい黄色~褐色、澄明の液体



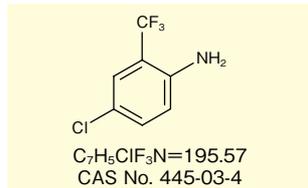
##### ■ イソキサジフェンエチル標準品

化学名: Ethyl 4,5-Dihydro-5,5-diphenyl-1,2-oxazole-3-carboxylate  
 含量 (qNMR): 99.0% 以上  
 外 観: 白色の粉末  
 備 考: 薬害軽減剤



##### ■ トリフルミゾール代謝産物 FA-1-1 標準品

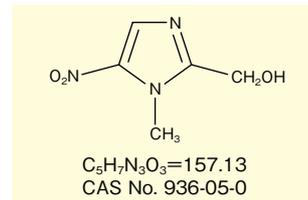
化学名: 4-Chloro- $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoro-*o*-toluidine  
 含量 (HPLC): 98.0% 以上  
 外 観: うすい黄色~黄色、澄明の液体



#### 動物用医薬品標準品

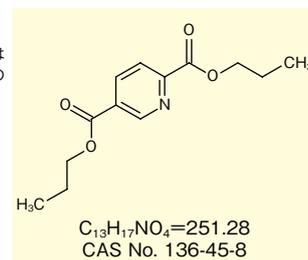
##### ■ ジメトリダゾール代謝産物 A 標準品

化学名: 2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazole  
 含量 (qNMR): 98.0% 以上  
 外 観: 白色~黄褐色、結晶~結晶性粉末



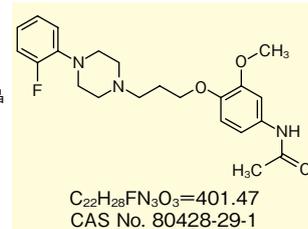
##### ■ イソシンコメロン酸ニプロピル標準品

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、又は融解時、うすい黄色~黄色、澄明の液体



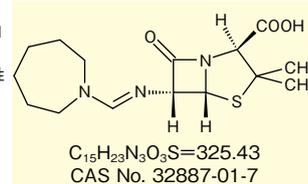
##### ■ マホプラジン標準品

化学名: N-[4-[3-[4-(2-Fluorophenyl)-1-piperazinyl]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



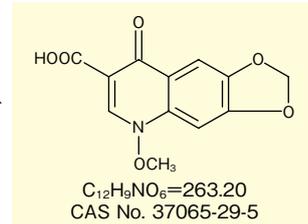
##### ■ メシリナム標準品

化学名: 6-[[[Hexahydro-1*H*-azepin-1-yl)methylene]amino]penicillanic Acid  
 含量 (HPLC): 97.0% 以上  
 外 観: 白色~わずかにうすい黄色、結晶性粉末~粉末



##### ■ 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



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
018-26541	Ametoctradin Standard <small>Ref</small>	残留農薬試験用	100mg	35,000
094-07241	N-Isopropylaniline Standard <small>Ref</small> <small>国</small> <small>III</small>	残留農薬試験用	100mg	6,000
097-07231	Isoxadifen-ethyl Standard <small>Ref</small>	残留農薬試験用	100mg	25,000
200-20521	Triflumizole Metabolite FA-1-1 Standard <small>Ref</small> <small>国</small>	残留農薬試験用	100mg	15,000

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
045-34141	Dimetridazole Metabolite A Standard <small>Ref</small>	高速液体クロマトグラフ用	50mg	20,000
046-33951	Dipropyl Isosinchomeronate Standard <small>Ref</small> <small>国</small>	高速液体クロマトグラフ用	100mg	7,000
130-18481	Mafoprozine Standard <small>Ref</small>	高速液体クロマトグラフ用	100mg	20,000
133-18471	Mecillinam Standard <small>Ref</small>	高速液体クロマトグラフ用	100mg	30,000
136-18461	Miloxacin Standard <small>Ref</small>	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品目は当社 HPにてご覧下さい。  
 和光純薬試薬 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) → 2. ポジティブ  
 リスト制度対応 取扱い品目一覧 (16.07)

Ref: 2~10℃保存 F: 20℃保存 30: 80℃保存 150: 150℃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、2017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。

## タンパク質精製のコストダウンに Wako Ni-NTA アガロース

本品は、ヒスチジンが6残基続く6×ヒスチジントグをN末端またはC末端側に融合した組換えタンパク質のアフィニティー精製に使用されます。可溶性タンパク質、不溶性タンパク質、膜タンパク質など幅広いタンパク質の精製に利用されています。溶出にペプチドを使用せず、低コストかつ簡便な方法で目的のタンパク質を精製できます。

### 特長

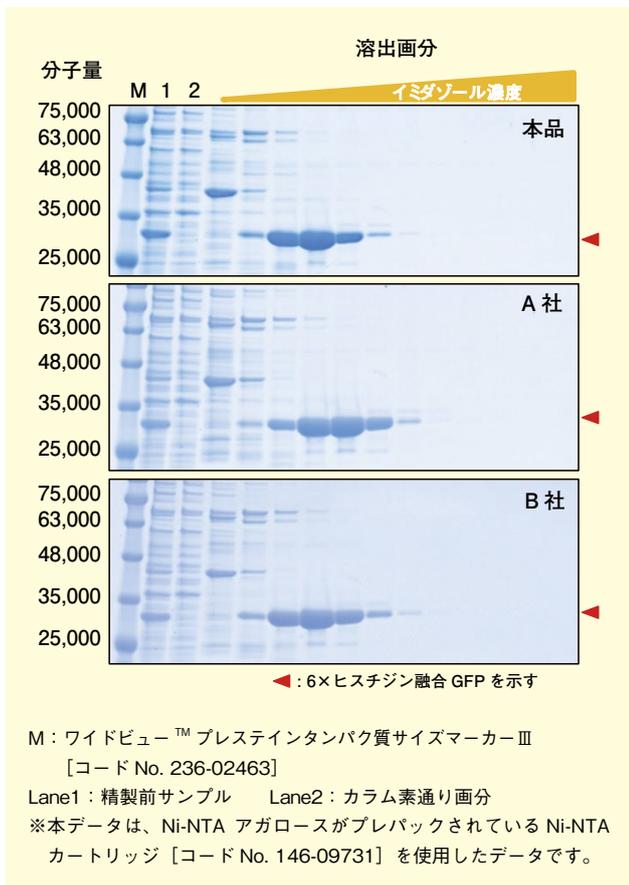
- 安価なためコスト削減可能
- 再生利用可能

### 製品仕様

ゲルマトリックス	6% 架橋アガロース
リガンド	ニトリロ三酢酸 (NTA)
ビーズサイズ	50-150 μm
タンパク質結合容量*	> 50mg/ml ゲル

\*タンパク質結合容量は目的タンパク質により異なります。

### データ



他社品と同等量のタンパク質を回収可能です。

### 〈実験条件〉

- ① 超音波破砕法により、6×ヒスチジン融合 GFP を大腸菌から回収し、精製前サンプルとする。
- ② Ni-NTA カートリッジを液体クロマトグラフィーシステムへ接続する。
- ③ Running Buffer\*<sup>1</sup> 150ml でカラムを平衡化する。
- ④ 精製前サンプルを供す。
- ⑤ Running Buffer 100ml で洗浄する。
- ⑥ Elution Buffer\*<sup>2</sup> 150ml で溶出する。
- ⑦ Running Buffer 100ml で洗浄する。
- ⑧ SDS-PAGE、CBB 染色を行う。

\*1 Running Buffer : 20mmol/l Sodium Phosphate (pH 7.4),  
500mmol/l Sodium Chloride,  
10mmol/l Imidazole

\*2 Elution Buffer : 20mmol/l Sodium Phosphate (pH 7.4),  
500mmol/l Sodium Chloride,  
10 ~ 500mmol/l Imidazole

実験条件は、目的のタンパク質ごとにご検討下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
147-09761	Ni-NTA Agarose 	遺伝子研究用	2ml (Net 1ml)	4,500
143-09763			10ml (Net 5ml)	10,500
141-09764			100ml (Net 50ml)	62,000

### 関連商品

#### プレバックタイプ



本品がプレバックされているカートリッジタイプの製品です。液体クロマトグラフィーシステムに Ready-to-use でお使い頂けます。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
146-09731	Ni-NTA Cartridge 	遺伝子研究用	1本 (5ml)	13,000
142-09733			1本 (5ml) × 5	55,000

#### 高性能タイプ

タンパク質結合容量が高い高性能タイプの Ni-NTA アガロースです。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
149-09684	Ni-NTA Agarose HP 	遺伝子研究用	2ml (Net 1ml)	8,500
145-09681			10ml (Net 5ml)	13,000
141-09683			100ml (Net 50ml)	100,000

Ref... 2 ~ 10℃ 保存    F... 20℃ 保存    90... 80℃ 保存    150... 150℃ 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、2017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。

## クローニングが面倒だと考えている方に GENEWIZ® 人工遺伝子合成サービス

GENEWIZ 社では、クローニング作業の手間を省き、お客様の希望に合わせた人工遺伝子を合成します。

商品のお届けは、標準生産期間から2~3営業日後の到着となります。

【納品物】各サービス共通 (Fragment Gene 除く)

- 合成した目的遺伝子が挿入済みの凍結乾燥プラスミド (約2~5 μg)
- 制限酵素による解析を含む成績書 (COA)
- アライメントした目的遺伝子配列のトレースデータ
- 合成遺伝子とベクターの配列情報

### 標準合成サービス

#### 製品概要

- 最低価格・・・45円/bp
- ミニマムチャージ・・・19,500円

遺伝子鎖長 (bp)	希望納入価格	標準生産期間
453 以下	19,500 円 / 件	6 ~ 9 営業日
454 ~ 1,500	45 円 /bp	
1,501 ~ 3,000		10 ~ 12 営業日
3,001 ~ 5,000	55 円 /bp	15 ~ 20 営業日
5,001 ~ 6,000	65 円 /bp	20 ~ 25 営業日
6,001 ~ 7,000		25 ~ 30 営業日
7,001 ~ 8,000		30 ~ 35 営業日
8,001 ~ 10,000	75 円 /bp	35 ~ 40 営業日
10,001 ≥	見積り	見積り

### TurboGENE™ (緊急対応サービス)

標準合成サービスよりも早く納品する緊急対応サービスです。

#### 製品概要

- 最短標準生産期間・・・5日
- ミニマムチャージ・・・32,688円

遺伝子鎖長 (bp)	希望納入価格	標準生産期間
453 以下	32,688 円 / 件	5 営業日
454 ~ 1,500	72 円 /bp	
1,501 ~ 2,000		7 営業日
2,001 ~ 3,000	80 円 /bp	11 営業日
3,001 ~ 5,000		15 営業日

### バリュー遺伝子サービス

標準合成サービスと比較して、標準生産期間は長くなりますが、価格を下げたサービスです。研究プロジェクトのコストを大幅に削減します。

#### 製品概要

- 最低価格・・・36円/bp
- ミニマムチャージ・・・15,600円

遺伝子鎖長 (bp)	希望納入価格	標準生産期間
453 以下	15,600 円 / 件	10 ~ 14 営業日
454 ~ 1,500	36 円 /bp	
1,501 ~ 3,000		15 ~ 19 営業日
3,001 ~ 5,000	44 円 /bp	20 ~ 24 営業日
5,001 ~ 6,000	52 円 /bp	25 ~ 29 営業日
6,001 ~ 7,000		30 ~ 34 営業日
7,001 ~ 8,000		35 ~ 39 営業日
8,001 ~ 9,000	60 円 /bp	40 ~ 45 営業日
9,001 ~ 10,000		

### Fragment Gene

作製した人工遺伝子をベクターに挿入することを希望されないお客様に向けたサービスです。カスタムベクターで使いたいという方におすすめです。

#### 製品概要

- 納品物・・・二本鎖PCRフラグメント (500~1,000 ng)
- 電気泳動によるターゲット遺伝子のサイズ検証実施
- DNA シークエンス解析による検証実施
- 正確率：100%正しい配列のフラグメントを80%以上含む

遺伝子鎖 (bp)	希望納入価格	標準生産期間	収量 (ng)
100 ~ 250	7,000 円 / 件	2 ~ 4 営業日	500
251 ~ 500	12,000 円 / 件		
501 ~ 750	16,000 円 / 件		
751 ~ 1,000	20,000 円 / 件	3 ~ 5 営業日	1,000
1,001 ~ 1,250	31,000 円 / 件		
1,251 ~ 1,500	38,000 円 / 件		
1,501 ~ 1,750	45,000 円 / 件		
1,751 ~ 2,000	52,000 円 / 件		

見積もりのご依頼は専用メールアドレスもしくは、オンライン見積依頼フォームをご利用下さい。

■ 専用メールアドレス  
下記を記載の上、メール送信下さい。  
jutaku@wako-chem.co.jp

- ①プロジェクト名, ②ご依頼配列, ③クローニングベクター, ④遺伝子最適化有無, ⑤販売代理店名

■ オンライン見積依頼フォーム  
<https://www02.wako-chem.co.jp/cgi-bin/jutaku/gene/form.cgi>

## アルツハイマー研究に



### 抗アミロイドβ, モノクローナル抗体 (BAN50/BNT77/BA27/BC05)

アミロイドβ (Aβ) は、約 40 アミノ酸から成るペプチドで、アルツハイマー病患者の脳内に蓄積して、老人斑を形成します。そのため Aβ はアルツハイマー病の原因因子として考えられています。Aβ には複数の種類があり、主なものとして Aβ 40 (40 アミノ酸)、Aβ 42 (42 アミノ酸)、Aβ 43 (43 アミノ酸) があります。

この度、エピトープが異なる 4 種のクローン (BAN50/BNT77/BA27/BC05) をラインアップしました。

### 特長

- 文献での使用実績豊富
- 小容量包装あり

### 製品概要

#### ■ 各抗体の認識 Aβ 種

クローン No.	ヒト			マウス/ラット		
	Aβ40	Aβ42	Aβ43	Aβ40	Aβ42	Aβ43
BAN50	○	○	○	×	×	×
BNT77	○	○	○	○	○	○
BA27	○	×	×	○	×	×
BC05	×	○	○	×	○	○

○反応する ×反応しない

特異性 抗原	サブクラス 交差性	適応 参考文献
クローン No. BAN50		
ヒト Aβ の N 末端配列を認識します。	マウス IgG1・κ	WB 1 : 2,000 ICC 1 : 2,000 IHC 1 : 1,000-2,000 IP 1 : 1,000 ELISA 1 : 100-500
ヒト Aβ 1-16 a.a.	ヒト	1-5)
クローン No. BNT77		
Aβ の中央部分を認識します。	マウス IgA・κ	IP 1 : 500 ELISA 1 : 250-1,000
ヒト Aβ 11-28 a.a.	ヒトマウスラット	1, 6, 7)
クローン No. BA27		
Aβ 40 の C 末端部分を特異的に認識します。	マウス IgG2a・κ	WB 1 : 100 IHC 1 : 500-5,000 ELISA 1 : 100-1,000
ヒト Aβ 1-40 a.a.	ヒトマウスラット	1, 3, 5-9)

特異性 抗原	サブクラス 交差性	適応 参考文献
クローン No. BC05		
Aβ 42(43) の C 末端部分を特異的に認識します。	マウス IgG1・κ	WB 1 : 1,000 IHC 1 : 500-5,000 ELISA 1 : 100-1,000
ヒト Aβ 35-43 a.a.	ヒトマウスラット	1, 3, 5-9)

### 【参考文献】

- 1) Asami-Odaka, A. et al. : *Biochemistry*, **34**, 10272 (1995).
- 2) Sambamurti, K. et al. : *J. Biol. Chem.*, **274**, 26810 (1999).
- 3) Fukumoto, H. et al. : *J. Neurosci.*, **30**, 11157 (2010).
- 4) Takahara, Y. et al. : *J. Neurosci.*, **25**, 436 (2005).
- 5) Iwata, H. et al. : *J. Biol. Chem.*, **276**, 21678 (2001).
- 6) Tomita, T. et al. : *J. Neurosci.*, **19**, 10627 (1999).
- 7) Sudoh, S. et al. : *J. Neurochem.*, **71**, 1535 (1998).
- 8) Iwatsubo, T. et al. : *Am. J. Pathol.*, **149**, 1823 (1996).
- 9) Nunomura, A. et al. : *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **59**, 1011 (2000).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
017-26871	Anti Human Amyloid β, Monoclonal Antibody (BAN50)	免疫化学用	10μl	10,000
013-26873	Anti Human Amyloid β, Monoclonal Antibody (BAN50)	免疫化学用	50μl	35,000
014-26881	Anti Amyloid β, Monoclonal Antibody (BNT77)	免疫化学用	10μl	10,000
010-26883	Anti Amyloid β, Monoclonal Antibody (BNT77)	免疫化学用	50μl	35,000
018-26921	Anti Amyloid β40, Monoclonal Antibody (BA27)	免疫化学用	10μl	10,000
014-26923	Anti Amyloid β40, Monoclonal Antibody (BA27)	免疫化学用	50μl	35,000
014-26901	Anti Amyloid β42 (43), Monoclonal Antibody (BC05)	免疫化学用	10μl	10,000
010-26903	Anti Amyloid β42 (43), Monoclonal Antibody (BC05)	免疫化学用	50μl	35,000

### 関連商品

#### ELISAキット

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
ヒト				
292-62301	Human β Amyloid(1-40) ELISA Kit <i>Wako</i>	免疫化学用	96回用	78,000
298-64601	Human β Amyloid(1-40) ELISA Kit <i>Wako</i> II	免疫化学用	96回用	78,000
298-62401	Human β Amyloid(1-42) ELISA Kit <i>Wako</i>	免疫化学用	96回用	78,000
296-64401	Human β Amyloid(1-42) ELISA Kit <i>Wako</i> , High Sensitive	免疫化学用	96回用	90,000
ヒト/ラット				
294-62501	Human/Rat β Amyloid (40) ELISA Kit <i>Wako</i>	免疫化学用	96回用	78,000
294-64701	Human/Rat β Amyloid (40) ELISA Kit <i>Wako</i> II	免疫化学用	96回用	78,000
290-62601	Human/Rat β Amyloid (42) ELISA Kit <i>Wako</i>	免疫化学用	96回用	78,000
292-64501	Human/Rat β Amyloid (42) ELISA Kit <i>Wako</i> , High Sensitive	免疫化学用	96回用	90,000

: 2~10℃保存 : 20℃保存 : 80℃保存 : 150℃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、2017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。

## Native formのセロトントランスポーターを認識 Wako

### 抗マウスセロトントランスポーター, ラットモノクローナル抗体(R5-3-2)

本品は、DNA免疫法により樹立したNative formのセロトントランスポーターを特異的に認識するラットモノクローナル抗体です。セロトントランスポーターは12回膜貫通型の膜タンパク質で、記憶、摂食、睡眠などの制御に関与するセロトニンの量を調節しており、精神疾患との関連が報告されています。脳内では縫線核、大脳皮質、海馬などに広く局在し、末梢では血小板での発現も確認されています。

#### 特長

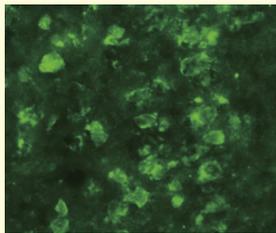
- 免疫組織染色で使用可能
- Native formのセロトントランスポーターを認識

#### 製品概要

- クローン No. : R5-3-2
- サブクラス : ラット IgG<sub>2a</sub>・κ
- 交差性 : マウス (他の動物種は未検証)
- 適応 : フローサイトメトリー (1:100~10,000)  
免疫組織染色 (1:100)

#### 使用例

##### 免疫組織染色



サンプル : 10 週齢 ICR 系雄マウス  
大脳皮質前頭前野  
切片 : 凍結切片  
賦活化条件 : くえん酸緩衝液 (pH 6) 中でマイクロウェーブ処理 10 分  
抗体濃度 : 10 μg/ml  
二次抗体 : 抗ラット 1gG-Alexa Fluor488

セロトントランスポーター mRNA の発現が報告されている前頭前野で陽性シグナルが見られた。

(データご提供 : 大阪大学大学院歯学研究科 田熊先生、長谷部先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
011-26911	Anti Mouse Serotonin Transporter, Rat Monoclonal Antibody (R5-3-2)	免疫化学用	10μl	10,000
017-26913			50μl	30,000

#### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-25981	Anti Mouse 5-HT <sub>1A</sub> Receptor, Rat Monoclonal Antibody (4A6)	免疫化学用	50μl	30,000
013-25991	Anti Mouse 5-HT <sub>2C</sub> Receptor, Rat Monoclonal Antibody (6D2)	免疫化学用	50μl	30,000

## 神経幹細胞マーカー Wako

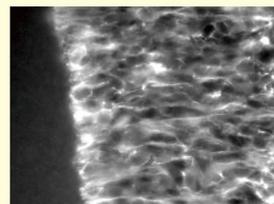
### 抗マウス Nestin, ラットモノクローナル抗体(7A3)

本品は、中間径フィラメントタンパク質である Nestin を認識するラットモノクローナル抗体です。Nestin は、中間径フィラメントのクラス VI に属し、神経幹細胞、神経前駆細胞に発現していることから、これらのマーカーとして知られています。

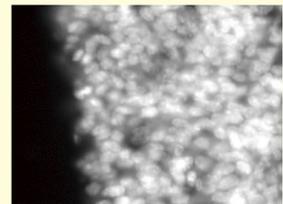
#### 製品概要

- クローン No. : 7A3
- サブクラス : ラット IgG<sub>2b</sub>・κ
- 交差性 : マウス
- 適応 : 免疫組織染色 (1:100~500)

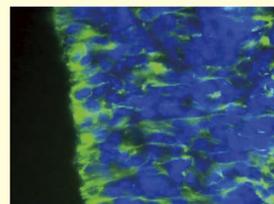
#### 使用例



Nestin



核



Merge

サンプル : 胎生 12.5 日目マウス  
大脳皮質  
切片 : 凍結切片  
抗体濃度 : 10 μg/ml  
二次抗体 : 抗ラット IgG-Alexa Fluor 488  
緑 : Nestin  
青 : 核 (Hoechst33342)

Nestin を発現している神経幹細胞が染色された。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-26841	Anti Mouse Nestin, Rat Monoclonal Antibody (7A3)	免疫化学用	10μl	10,000
012-26843			50μl	30,000

#### 関連商品

##### Iba1 抗体

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting)	免疫化学用	50μg	30,000
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
012-26723	Anti Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP24)	免疫化学用	10μl	10,000
016-26721			50μl	35,000

##### 神経細胞培養用試薬

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
148-09671	Neuron Culture Medium	細胞培養用	100ml	50,000
291-78001	Neuron Dissociation Solutions	細胞培養用	4セット	31,100
297-78101	Neuron Dissociation Solutions S	細胞培養用	10セット	50,000

## ヒト ES/iPS 細胞培養用液体培地

### StemSure® on-feeder hPSC 培地

本品は、フィーダー細胞上でヒト ES/iPS 細胞を培養するための培地です。

基礎培地、血清代替品、アミノ酸溶液、還元剤などをブレミックスしていますので、培地調製の手間を省くことができます。なお、bFGF は含んでいませんので、ご使用前に bFGF を添加して下さい。

#### 特長

- 未分化維持性に優れる
- ブレミックスされているため bFGF の添加のみで使用可能

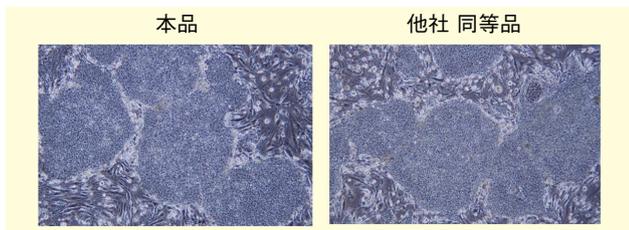
#### 試験項目

- 無菌試験
- pH
- 浸透圧
- エンドトキシン
- マイコプラズマ試験

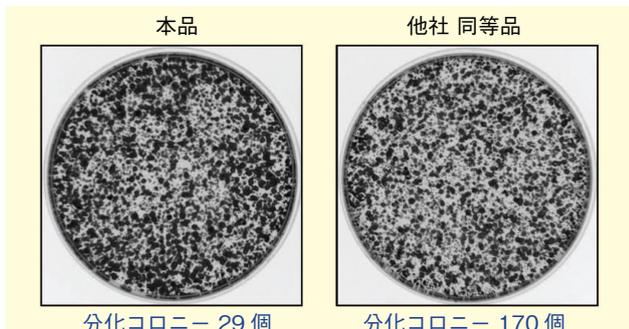


#### データ

##### 細胞形態



##### アルカリホスファターゼ染色



フィーダー細胞：STO 細胞、培地組成：StemSure® on-feeder hPSC 培地 + 5 ng/ml bFGF、播種比率：1：8

本品と他社同等品を用いてヒト iPS 細胞 201B7 株を培養し、3 継代した後のアルカリホスファターゼ染色の結果を示した。本品は、1dish あたりの分化コロニーの数が少なく、未分化性維持に優れていることが分かった。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
285-93925	StemSure® on-feeder hPSC Medium	細胞培養用	500ml	28,000

#### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
064-04541	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant	細胞生物学用	50µg	39,500
060-04543	[bFGF/FGFb/FGF2]	細胞生物学用	100µg	67,000
064-05381	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant, Animal-derived-free	細胞生物学用	50µg	39,500
068-05384	[bFGF/FGFb/FGF2]	細胞生物学用	100µg	67,000
257-00511			1mg	12,300
253-00513	Y-27632	細胞生物学用	5mg	37,000
251-00514			25mg	145,000
030-24021	CultureSure® Y-27632	細胞培養用	1mg	15,000
036-24023	エンドトキシン、マイコプラズマ試験済み	細胞培養用	5mg	40,000
034-24024			25mg	150,000
253-00591	5mmol/l Y-27632 Solution	細胞培養用	300µl	20,000
039-24591	CultureSure® 10mmol/l Y-27632 Solution, Animal-derived-free	細胞培養用	300µl	30,000

## Wnt シグナル阻害剤

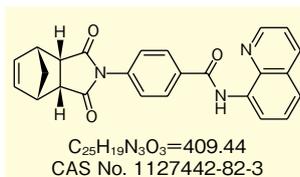
### CultureSure® IWR-1-endo

CultureSure® シリーズに、IWR-1-endo が新たに追加となりました。IWR-1-endo は Wnt シグナルの阻害剤です。β カテニンを分解する複合体 (Axin2, Apc, Ckl, Gsk3β から成る) を安定化させ、β カテニンの分解を促進させます。マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験などを行っているため、細胞培養に安心してご使用頂けます。

この他の CultureSure® 低分子化合物は、当社 HP ([http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/culturesure\\_ya/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/culturesure_ya/index.htm)) をご覧下さい。

#### 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：DMSO (10mg/ml)、エタノール (0.2mg/ml)
- エンドトキシン、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)
037-25131	CultureSure® IWR-1-endo	細胞培養用	5mg	照会
033-25133			25mg	照会

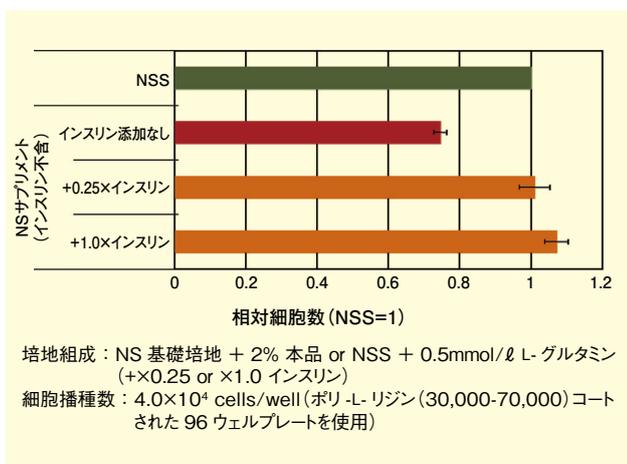
Refrigerated (2~10°C), Frozen (-20°C), Deep Frozen (-80°C), Ultra Deep Frozen (-150°C) indicates storage conditions. If not indicated, it is room temperature storage. Other abbreviations refer to the back cover. The content is as of January 2017. For the latest information, please refer to [siyaku.com](http://www.siyaku.com/).

## 神経細胞培養用無血清サプリメント Wako NS サプリメント (インスリン不含有)

本品は、神経細胞培養用の血清不含有サプリメントです。インスリン分泌及びインスリン受容体の研究にご利用下さい。

### データ

#### ■ ラット大脳皮質由来初代神経細胞の培養



ラット胎児 (E17) の大脳皮質より単離した神経細胞を NS 基礎培地と本品あるいは NS サプリメント (インスリン含有品) (NSS) を混合した培地で培養し、培養 6 日目の相対細胞数 (NSS を含む培地で培養したときの細胞数を 1 とした) を確認した。比較対象として本品に通常の NSS に含まれるインスリン濃度の 0.25 倍、1.0 倍のインスリンを添加した条件に関しても同様に確認した。その結果、インスリンには神経細胞の生存促進作用があるため、本品は通常の NSS に比べて生細胞数が低下しているが、インスリンを加えた場合、通常の NSS と同様の細胞数を示すことが確認できた。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 149-09721	NS Supplement without Insulin (×50)	細胞培養用 	10ml	22,000
NEW 145-09723		細胞培養用	50ml	88,000

### 関連商品

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	22,000
142-09691	NS Supplement without Vitamin A (×50) 	細胞培養用	10ml	22,000
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



## 5th IIS Symposium • 32nd Wako Workshop Joint Meeting 睡眠・覚醒の謎に挑む Solving the mystery of sleep

平成 28 年 12 月 12 日に、Wako ワークショップを開催しました。

32 回目となる今回は、IIS (国際統合睡眠医科学研究機構) との合同シンポジウムとして、柳沢 正史先生に総合企画頂き、開催しました。この様子は、2017 年 4 月発行の和光純薬時報でお伝えする予定です。

総合企画：柳沢 正史 先生

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS) 機構長

主催：筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS) ・  
和光純薬工業株式会社 合同シンポジウム実行委員会

後援：文部科学省

日時：2016 年 12 月 12 日 (月) AM 9 : 00 ~

会場：東京コンファレンスセンター・品川



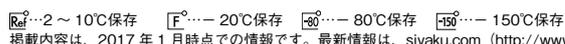
合同シンポジウムの会場風景



ポスターセッション風景



総合企画の柳沢正史先生

 2 ~ 10°C 保存  20°C 保存  80°C 保存  150°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、2017 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。

## 簡便・迅速な総タンパク質量キット Wako プロテインアッセイラピッドキットワコーII

本品は、試料中の総タンパク質を測定するキットです。現在、さまざまなタンパク質量法が利用されていますが、多くの方法では試験管やガラス器具などへの汚染などの問題がありました。

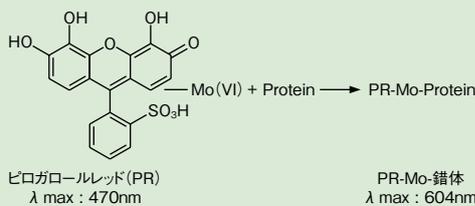
本キットはピロガロールレッド (PR) を色素に用い比色法を基本原理として開発された測定キットです。発色試液は、通常の使用では器具類を汚染することはほとんどなく、操作も簡便です。

### 特長

- 定量はワンステップ
- 発色試液は希釈不要
- 反応時間は30分間
- 発色試液の器具への汚染が少ない

### 測定原理

ピロガロールレッド (PR) がモリブデン酸と結合し、470nm に極大吸収をもつ赤色錯体を形成します。この錯体は酸性下でタンパク質と結合すると波長がシフトし、青紫色を呈します。600nm 付近の吸光度を測定することにより、試料中の総タンパク質濃度を定量します。



### 測定範囲

セル法: 62.5 ~ 2,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$   
マイクロプレート法: 125 ~ 2,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$

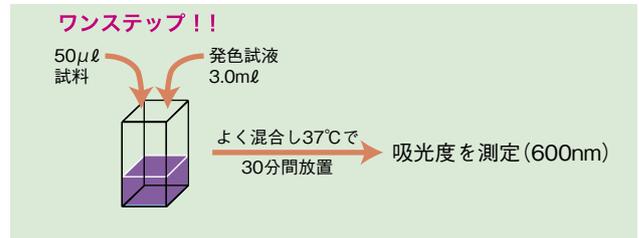
### キット内容

- 発色試液 310mL × 1本
- BSA 標準液 (2mg/mL) 5mL × 1本

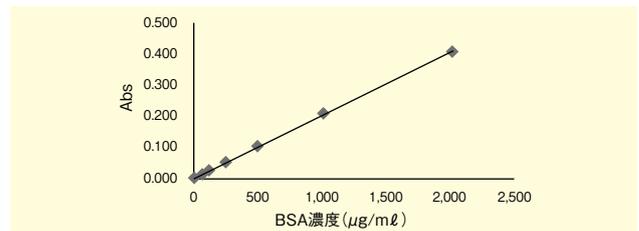
### 操作概要 (セル法)

1. 試料 50  $\mu\text{L}$  と発色試液 3.0mL をよく混合する\*。
2. 37°C で 30 分間加温する。
3. 600nm の吸光度を測定する。
4. 検量線よりタンパク質濃度を算出する。

\* マイクロプレート法では試料 10  $\mu\text{L}$  と発色試液 250  $\mu\text{L}$  を混合



### 〈検量線の例 (セル法)〉



BSA 標準液 (2mg/mL) を蒸留水にて段階希釈して測定しています。

### 共存物質の影響

BSA (濃度 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を標品にした時、下記共存物質の影響は、無添加時の吸光度の  $\pm 10\%$  以内であることを確認しています。

化合物	共存許容濃度	化合物	共存許容濃度
硫酸アンモニウム	0.8mol/L	MES	0.7mol/L
ジチオトレイトール	0.5mol/L	MOPS	0.2mol/L
EDTA・2Na	0.4mol/L	塩化ナトリウム	4mol/L
EGTA	0.04mol/L	水酸化ナトリウム	0.02mol/L
フルクトース	0.1mg/mL	りん酸二水素ナトリウム 二水和物	1mol/L
グルコース	0.1mg/mL	PIPES	0.5mol/L
グルタチオン	0.5mg/mL	SDS*	0.01w/v%
グリセロール	50v/v%	アジ化ナトリウム	0.2w/v%
グリシン	0.1mol/L	スクロース	40w/v%
グアニジン塩酸塩	0.1mol/L	Triton® X-100	0.07w/v%
HEPES	0.1mol/L	Tris	2mol/L
塩酸	1mol/L	Tween® 20 (10w/v%溶液)	0.1w/v%
塩化カリウム	1mol/L	尿素	6mol/L
塩化マグネシウム六水和物	1mol/L		
2-メルカプトエタノール	0.5mol/L		

\*本キットは SDS の影響を受けやすい傾向があります。SDS 0.01% において BSA 濃度 250 ~ 2,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  でのみ検量線を作成できることを確認していますが、SDS 添加下でのご使用は避けて下さい。

Triton は Dow Chemical Company の登録商標です。

Tween は ICI Americas, Inc. の登録商標です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
295-78401	Protein Assay Rapid Kit wako II 	タンパク質 定量用	100回用	12,500

### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
297-73101	Protein Assay BCA Kit ピジンコニン酸 (BCA) を用いたタンパク質定量試薬	タンパク質 定量用	250回用	15,000
168-25911	Protein Assay Bradford Reagent  クーマシーブリリアントブルー (CBB) G-250 を用いたタンパク質定量試薬	タンパク質 定量用	1 $\ell$	13,000

## 抗炎症・鎮痛作用物質



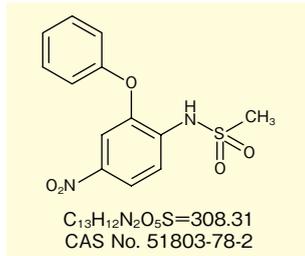
### COX-2阻害剤

シクロオキシゲナーゼ (COX) は、アラキドン酸カスケードという代謝経路において、アラキドン酸をプロスタグランジンに変換する酵素です。COX 阻害剤は、発熱、痛みに関与するプロスタグランジンの生成を阻害することにより、抗炎症、鎮痛作用を示します。COX には2つのアイソザイムが存在しており、COX-1 は全身に発現していますが、COX-2 は炎症部位に発現するため、COX-2 を選択的に阻害することで、他の部位へ影響を与えず、抗炎症作用を示すと考えられています。

#### ■ ニメスリド

本品は、COX-2 選択的な非ステロイド系阻害剤です。肝毒性が強いと報告されています。

- 外観：うすい黄色～褐色、結晶性粉末～粉末
- アセトン溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上
- IC<sub>50</sub>：70 μmol/l (リコンビナントヒト COX-1)、1.27 μmol/l (リコンビナントヒト COX-2)<sup>1)</sup>



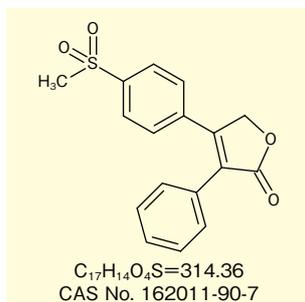
#### 【参考文献】

1) Barnett, J. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1209**, 130 (1994).

#### ■ ロフェコキシブ

本品は、COX-2 選択的な阻害剤です。長期使用による心血管リスクの増加が確認されています。

- 外観：白色～黄色、結晶性粉末～粉末
- ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 140-09751	Nimesulide	Ref <sup>o</sup>	5g	8,000
NEW 148-09752			25g	32,000
NEW 186-03331	Rofecoxib	細胞生物学用	100mg	12,000

その他、多数の COX 阻害剤を取り扱っています。当社 HP をご覧ください。

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/Nimesulide/index.htm>

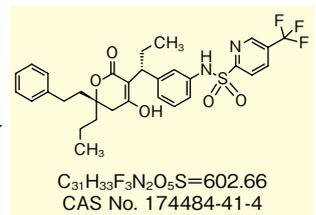
## HIV プロテアーゼ阻害剤



### チプラナビル

本品は、HIV プロテアーゼ阻害剤です。HIV のポリタンパク質を特異的に切断する HIV プロテアーゼを阻害し、感染性を有する成熟型ウイルスの形成を妨げます。

- 外観：白色～うすい褐色、結晶～粉末
- アセトニトリル-メタノール溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：95.0% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 200-20381	Tipranavir	Ref <sup>o</sup>	1mg	30,000
NEW 206-20383			5mg	120,000

#### 関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
185-03041	Ritonavir	Ref <sup>o</sup>	10mg	7,200
181-03043			50mg	18,000
010-25261	Amprenavir	Ref <sup>o</sup>	5mg	12,000
016-25263			25mg	33,000

## プロポリス由来生理活性物質

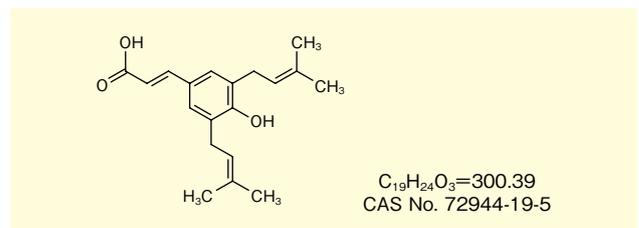


### アルテピリン C

本品は、健康食品のプロポリスに含まれる桂皮酸誘導体の一つです。抗がん作用、抗炎症作用、抗酸化作用など、さまざまな生理活性が報告されています。

#### 製品概要

- 外観：白色～ほとんど白色、結晶～粉末
- メタノール溶状：試験適合
- 含量 (HPLC)：98.0% 以上



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 019-26711	Artepillin C	Ref <sup>o</sup>	5mg	45,000

## 後藤 格次 (1889.3.4~1969.11.29)

東京農業大学名誉教授 山本 出

### 生い立ち

後藤格次は明治22年3月4日、福岡県吉井町（現在うきは市の一部）の東光寺（明治期の神仏分離政策で廃寺）に生まれた。幕末の高名な学者広瀬淡窓の生母、また後藤格次もこの寺の出自であるところから東光寺跡には両者を顕彰する石碑が建っている（表1）。

### 北里研究所入所の経緯

後藤は東京帝国大学農学部農芸化学科に学び、鈴木梅太郎先生の薫陶を受けた。北里柴三郎門下の宮島幹之助と東大農学部の石川千代松の両氏が動物学同士で親しかったので、当時農学部学生で北里柴三郎を敬愛していた後藤はこの両先生を介して大学卒業と同時に北里が主管し、伝染病研究のメッカといわれる内務省伝染病研究所に就職した。大正3年（1914）研究所が文部省の所管に変わり、政府の方針に納得せざる北里は研究所を去り、私立の北里研究所を樹立した。このとき門下生一同と共に後藤は北里研究所に参加した。

北里が北里伝染病研究所といわず北里研究所（以下北研）と称したのは伝染病を超えて最先端の研究に挑む意図

表1. 学歴・職歴/栄誉

#### 学歴・職歴

熊本高等学校	
東京帝国大学農学部農芸化学科	明治45年（1912）卒；（国立）伝染病研究所に入所
大正3年（1914）	（私立）北里研究所創立と共に入所、助手；化学部創設に貢献
大正4年（1915）	から大正7年（1918） 欧州留学
大正11年（1922）	から東大農学部講師を兼任
大正13年（1924）	日本農芸化学会創成期の創立委員；日本農芸化学会誌の編集幹事
大正14年（1925）	農学博士
昭和12年（1937）	北里研究所理事（～1943）
昭和18年（1943）	東大農学部農芸化学科生物化学講座教授（～1949）
昭和22年（1947）	日本農芸化学会会長（～1949）、編集顧問、評議員
昭和24年（1949）	北里研究所に復職；昭和29年まで監事・理事歴任
昭和29年（1954）	北里研究所定年、名誉部長としてとどまる
昭和37年（1962）	北里大学設立に参画、北里大学教授；昭和44年（1969）まで評議員、顧問を歴任
昭和44年（1969）	11月29日逝去（80歳）

#### 栄誉

昭和8年（1933）	日本化学会桜井賞
昭和24年（1949）	日本学士院恩賜賞
昭和25年（1950）	日本学士院会員
昭和40年（1965）	勲二等瑞宝章
昭和44年（1969）	正四位追叙



写真1. 後藤格次先生

によるという。化学部門ができたのは北里が化学の必要を認めたことに起因する。

### 留学

後藤は北研最初の在外研究員として大正4年（1915）から6年（1917）ロンドンのユニバーサルカレッジのコーリー教授の下で有機化学を学ぶ一方、マンチェスター大学のロビンソン教授の知遇をえた。大正6年から1年間ゼネバ大学でピクテー教授の下で勉強、大正7年（1918）帰国した。英国に到着したときは欧州戦争第2年目で実験

室は政府の仕事で忙しく、化学の研究はあまりできなかったという。この間、急にアルプスとアルカロイドに対する熱が燃えスイスのアルカロイドの大家ピクテー教授の下に赴いた。そのとき教授は二糖類の合成に没頭しており、あまり仕事はできなかったが、研究者の心構えだけは教授より学ぶこと大であった、という。

### サルバルサン

第一次大戦時（1914～18）また戦後、ドイツからの薬品輸入が途絶、鈴木梅太郎は、日本酒保蔵に必須だったサリチル酸、その他の国内生産を企図し、その一つサルバルサン（性病薬）については、後藤は留学から帰国後、一時鈴木の下でその合成の手伝いをした。その4ヶ月間は鈴木に親炙したので、今日でも輝かしき時だったと回顧している。製品の生理試験は北研の秦佐八郎が担当した。間もなく鈴木法のサルバルサンは三共で製造、北研の秦室で検定の上発売された。後藤にいわせれば、これが彼の唯一の北研への金銭的貢献であった。

### シノメニン研究の始まり

後藤によれば、「アルカロイドと私とは学生時代から因縁があったように思われ、今から思うと植物が好きだったからかもしれないが、一つはアルカロイドという言葉が妙に魅惑的に感じられていたらしい。学生時代の東大農学部の有機化学は、さほど発達しておらず、学生の時代にはアルカロイドはおろか有機化学のこともあまり勉強せず、土壤細菌学でも研究しようかと思っていた。

欧州から帰朝して、アルカロイドの研究題目を探していた時、田口勝太（京都帝大医学部）はオオツヅラフジの根からアルカロイドを抽出、その薬理を研究していた。田口は私にこのアルカロイドの化学研究をしないか、とのことであった。このアルカロイドは



図2. 北里柴三郎先生

クコリンと呼ばれた。

ところが私と関係なく、東大薬学科においてもこの研究が始められ、近藤平三郎、落合英二は大正12年春シノメニンの名でこのアルカロイドの研究第1報を発表、私も当時までの研究をまとめ同年秋、日本化学会に発表、その後数年上記両氏と私との研究は雁行したが昭和のはじめシノメニンの構造決定は一段落を告げ、近藤は防已科植物全部のアルカロイド、落合はマトリンの研究に転じたが、私はシノメニンを中心にモルフィン族アルカロイドの研究に終始した。」と言う。

シノメニンは神経痛治療薬として塩野義から発売された(大正10, 1921頃)。後藤帰国後、暫時サルバルサン合成に従事したが、その後は40年間にわたりシノメニンの化学と取り組み多数の研究業績を挙げた。シノメニン誘導体の薬理は、はじめ北研の武部虎一によって研究された(1933)。後藤の最後の研究対象はシノメニンから天然モルフィンの光学対掌体の合成であり、その生理作用は岡山大学の協力を得て明らかにされた(1957)。鎮痛作用はなかったが鎮咳作用を示した。後藤はモルフィンとその光学対掌体は体内でラセミ体をつくり、モルフィンの

有害作用を中和するかも知れないと化学者らしい夢を語ったことがあるがこの点は未検討である。

## 研究業績

60篇を越す報文の概要は「Sinomenine-an optical antipode of morphine alkaloids」(1964 北里研究所)に記載されている。シノメニンから天然系モルフィン類の光学対掌体6種をえ、武部虎一はこれらの薬理作用を研究したが、これらはモルフィン類に見られる麻痺作用、性欲興奮作用などを有せず主として痙攣作用を示した。これによりモルフィン類の作用はその立体構造が関係することが知られた。

藪田貞次郎の「故後藤格次会員追悼の辞」(日本学士院)の一部を借りると「後藤は本邦特有の防已科植物「オオツツラフジ」中に含まれるシノメニン、その二量体のジシノメニン、またシナクチン、ツツランの4種のアルカロイドの化学構造を決定し、特にシノメニンの呈する種々の特異な反応を天然モルフィン族アルカロイドの反応に関連して研究し、40年にわたる研究の結果は60篇以上の報文となり幾多の新事実を発見し多数の誘導体を作って天然モルフィン族アルカロイドにて未だ経験されなかった新事実を説明する等、モルフィン族アルカロイドの化学に多大の貢献をされ…」、「シノメニン研究の一目標としておられたモルフィンへの誘導は、それがモルフィンの対掌体である(+)-モルフィンで……博士はその成功を非常に喜ばれ満げに私共にも話されたのが深く私の印象に残っております。」とある。

後藤の「シノメニンの研究綜説」(1948年)には「……以上述べた所で諸君は我々の研究の大目的、即ちシノメニンを(+)-モルフィンに変ぜんとする努力はいまだ達せられていないのを知るであろう。……かく考えてくると我々の前途はなお遠大なものといわざるを得ない。我々は根気の続

く限りこの研究を続けていきたいのであるか、果たしてその目的を達し得るや否やは自信があるわけではない。おそらくこれ等の問題は我々よりもっと若い新進の研究者たちに残された輝かしいテーマであるかもしれない。……」とあるが、これが達成されたのは1954, 1957年である。

この点を少し詳しく記すと、後藤・山本 出が(+)-モルフィンを目指し、後少しという目鼻がついたとき、米国のMarshall Gatesが天然(-)-モルフィンの全合成を速報で発表し(1952)、その合成経路の最後の数段階は後藤が試みているのとまったく同様であった。その内の鍵となるステップの収率に関しGatesはscanty(かつかつ)と記している。このステップはわれわれも苦労していたが、良い収率をあげ、1954年シノメニンから(+)-モルフィンの誘導を発表し、Gatesの本報告では後藤・山本の反応条件に従った旨記載されている。

後藤・山本は8年間ほとんど二人きりであり、当時研究費は月7000円、構造決定にはまず結晶化、古典的元素分析、誘導体にして更なる元素分析、とくにシノメニン化学では対応するモルフィン誘導体とラセミ化合物を作り、旋光度がゼロになるかの確認が必要であり、それなりの物質質量を作らねばならなかった。また結晶化には多大の修練が必要とされた。これが機器分析を駆使したGatesに先行された一因である。

上記の(+)-モルフィン合成はGatesとまったく独立に行ったものであるが、もっとも重要な最後の数段階はGatesの速報に遅れたので、何とかまったく別の方法はないかと模索し3年後、シノメニンから(+)-モルフィンを容易につくる別法を見出した(1957)。収率は前の方法を凌駕し、容易に(+)-モルフィンが得られるに至り、生理活性の検討試料を提供できた。後藤積年のシノメニン研究の上に

立つ独自の合成ルートであった。

## 後藤の述懐

「シノメニン研究 40 年」(1958)によれば、「シノメニン研究はたった人生に一度しか生きられないこの人間にとって一生を打ちこむほど研究する必要があったかとの思いもあるが、シノメニン一つで終わってしまったのは、北里研究所という細菌学の研究所でアルカロイドの研究をやっていたのも一因で、孤立した実験室ではすべての知識を自分の手で集めねばならない。教員・学生を使って自分の研究をさせる便宜も無く、大学教授の想像できないハンディキャップがあった。熊本の五高時代植物学をやったかったが、先生に君のような貧乏人のすることではない、と叱られて、農芸化学に入ったが、化学をやっていると応用方面より金に縁が少ない純理的なことが面白くなった。人が学問をするか、金を儲けるかは、その人の天分嗜好、家庭の事情による。・・・化学者としての生涯が成功であったか失敗であったか、欲をいわずに済ませたい、欲をいえばもっと沢山仕事をすべきであった。」と。

筆者の理解では、シノメニン研究一筋はあたかも実験用マウスを徹底的に解剖し、生理機能を明らかにすることにより人体についても多くを知るがごときである。

## 教育業績

北研ではほとんどの期間、部下なるものはいなかったが、大正 11 年(1922)から東大農学部講師を兼ねて有機化学の講義を担当、昭和に入り毎年 2 名ほどが後藤の親しい薫陶を受けようと北研で卒業論文あるいは博士論文研究に携わり、その数は 20 名以上に達し、これらに多くの影響を与えた。昭和 19 年東大農学部の生化学研究室の教授を兼任、昭和 24 年(1949)東大退官まで 28 年の久しきにわたり

東大農芸化学科で学生の訓育にあたったが、この間 2000 人に及ぶ学生が教えを受けた。後藤の研究に対する真摯な態度と、立派な業績とが農芸化学領域における有機化学の発展にもたらした功績は極めて顕著である。

報文の他、後藤は合成有機化学、構造有機化学、反応有機化学なる 3 部作を出版(岩波書店)、当時の有機化学の先端を示し学生、研究者に多大に裨益した。いずれも大部であり、学生教育用には有機化学要説(朝倉書店)を出版している。またシノメニン並びに関連研究の進歩について「シノメニンの研究」(1944 までの総説)、「最近のシノメニン研究」(1949)、「Grewe のテトラヒドロデソキシコデインの完全合成」(1950)、「最近のモルフィンの化学」(1955、山本との共著)があるが、研究の集大成は「Sinomenine- an optical antipode of morphine alkaloids (1964)」で最終報文まで尽くしている。随筆として「学問の理想」(1950)、「老婆心」(1952)、「シノメニン研究四十年」(1958)、「化学物質名の仮名がきの統一についての所感」(1951)、「新制大学と化学教育」(1951)、「北里研究所を去る」(1960)、「鈴木梅太郎先生」(1961)などが手元にあるが全部を尽くしているとはいいがたい。

## 後藤の警句

報文以外にシノメニン関係の総説、随筆あるいは口頭で教育的言辞を多々発している。

- \*いかにしてこの激甚な有機及び生物両化学界の進歩に追いつき、これを追い越し、世界一流の化学国に伍していくべきか考えよ。
- \*学者の心構えの第一：オリジナリティを尊重すべし。殻を破るの努力である。鈴木梅太郎先生の偉業を追慕するのは、恩師への情誼だけでなく、当時の栄養学の定説を大胆に破ったからである。スポーツでいえば、誰がテブを切るかである。だが反則はいかん。
- 心構えの第二：有機化学に従事せんとするものは莫大な知識を身につけねばならない。化学でも一を聞いて十を知るかどうか、化学にほんとの趣味を有するかを決すべき判断の拠点である。もっとも化学が必要とされる職

業分野は多くあり理学か応用かは当人の資質、興味、環境によっており、いずれが上というわけではない。

心構えの第三：有機化学は実験の学問であるから「多く実験して、少なく主張する」習慣をつけよ。こう思うという場合、その思う所を実験して示すべきである。

第四は研究者の待遇：一国の富力に関する問題であるが、研究者に後顧の憂いを与えず専心研究に従事しうるだけの待遇をするのが望ましい。

\*金、研究費のために研究するな、学者は外食を節するのが一番の節約。

\*言葉を慎め。

\*後藤の口癖は「dignityを保て」。

\*書籍・文献は家で読め。実験中は立ち詰め、反応を監視しすべての事象を観察、思いをめぐらせ。

\*文学は古きを読み、科学は新しきを読み。

\*天行健にして息まず(天行健なり、君子もって自強して息まず)。後藤はこの句が好きで、Der Gang der Sterne ist stetig ohne Ruhe と訳されたのが耳に残っている。

\*後藤下の 8 年間山本は学会参加を許されなかった。農大に行ってから初めての農芸化学会での発表に際し「学会の重鎮が前列に並んでいるが、事ニコチン殺虫剤に関しては君が一番、自信をもって発表せよ」と。

\*山本が後藤の下を去り東京農大に行くに際しての言：長年なじんだシノメニン研究を続けられれば報文は出るだろうが、それではいつまでも後藤の研究になってしまう。君独自のテーマに取り組み、あれは山本の仕事だと世間が認める成果を挙げてこそ一人前だ。

最初の (+)-モルフィンの合成の際、人間がまだなっておらん、学位はまだだといわれたことと併せ後藤流の激励と思い、農薬の分野でニコチンの研究などで業績を挙げた。くしくも後藤がアルカロイドをはじめて学んだピクテは 1904 年ニコチンを合成している。山本は多くの関連化合物を合成、ニコチノイドと称し、今日のネオニコチノイド殺虫剤の基礎を作った。

## 後藤の人生観

原文のまま紹介するには長文、長時間を要するので片言隻句に形で供する点、許されたい。後藤の言うがごとく人生観は人それぞれのものであり、他者のそれは参考である。後藤の学生時代の青春の夢は一生の間にあらゆる科学を体験しこれを系統立てることであった。この夢は挫折したとはいえ、一日として忘れたことはない。多くの進化論の本を貪り読み境遇から得た体験と併せ徐々に人生観を作っていく

た。進化論への関心から動物学の石川千代松の知遇をえ、これが北里門下に入ることにつながった。欧州に留学したが時あたかも第一次大戦の真ただ中、専門の化学もさることながら、世界の情勢、人間とはなにかに関心をもち、これをまとめた原稿は出版の機会を逸したが、その結論は、進化の直接の動因は「生物が個性を区別する（原文のまま）」ことであり、ここから進化が生じ、その頂点が人間である。人間は本能、感情によると共に理性によって支配される。学問の目的の一つはこの理性を深化させ理性になつた社会を建設して、人生の目的を達成させるにある。それには「絶対的自由主義」が肝要、だが自分の自由を重んじるが故に、他者の自由を重んじることから自由の範囲は自ずと制限され、ここに社会規範、道徳の必要が生まれる。人はこの道徳を理性によって理想化せんとし、デモクラシーにいたつたが、制度の根本には精神的部分でこの「絶対的自由主義」がなければならぬ。こういった意味での生物的進化に続く精神的進化は徐々にしかも確固たる基礎の上に行われている。自由主義は各人が「独立自尊」でなければならぬので、その根底には自己の修養があるが、これには莫大な思考と学問がある。人生観なるものは大昔から語られてきたが科学の裏付けのある人生観は近代科学が発達して可能となった。人間が宇宙に出現して初めて宇宙は自己を理解し、我々の眼は宇宙の眼、我々の頭脳は宇宙の頭脳といえる。人間が不在ならば宇宙は存在したとしてもこれを理解し賛美するものとして人間は宇宙の発達における目的それ自身ともいえよう。ここに人間の尊厳があり、個人を尊重すべき所がある。生存権、法律の前に万民は平等というヒューマンイズムは進化の論理的、理性的産物であり人間のさらなる進歩を促す動因である。こう考えると社会に対する個人の責任はますます重大と

なる。死は人生と不離の関係にあり、宗教の領域でもあるとはいえ、科学は宗教の迷信的部分を除き、宗教への迫害、宗教による迫害を減じてきたのはヒューマンイズムの進歩といえよう。

## 人となり

研究者に対しては厳しかったが、学部学生には優しく、パーティーなどの集まりでは後藤の周囲に蝟集したものである。語学の才に恵まれ、知る限りマージャンに遊び、一方歌人佐々木清綱に師事、その歌集「洗瓶」がある。これにあたるフランス語には尿瓶の意味もある、と後藤は笑っていた。その一句は墓碑銘に記されている。後藤の晩年、先生に親しい連中が夫婦同伴で先生を囲み会食、歓談する会がもたれ、明石武和、山本 出は最年少の故で幹事役を務め、先生亡き後もあき夫人を囲み会は継続した。参集者には二國二郎、角田俊直、松井正直、中村道徳、江本 栄、小林恒夫、松井宗俊、丸尾文治、大村京生、福場博保、道喜美代、舟橋三郎、杉崎善次郎、三井進午、西田寿美、芦田 惇、斉藤日向の諸氏がおり、もって後藤がいかにか敬愛されたかが偲ばれる。

## 葬儀・墓地

先生の墓は世田谷三軒茶屋の教学院、通称日赤不動にあり、葬儀はここで営まれた。墓所にはあき夫人らが建てた黒大理石の墓碑銘がある。これを記す。

かぎいなきうれひ抱きて人は生き  
人は死すべく生まれ来しかな

正四位勲二等  
日本学士院会員  
農学博士東大教授 後藤格次  
北里研究所顧問  
法名 潤徳院秀格清次居士  
昭和四十四年十一月二十九日死去享年八十才  
法名 貞徳院格室妙秋大姉  
格次室あき  
平成十六年五月十六日死去享年百二才  
昭和四十五年秋彼岸建之  
後藤あき 秋山咲子  
平野絹子 福本昭子

後藤先生が亡くなわれて半世紀を閲し門下生のほとんどが死去、今日先生の業績を顧みる者、名前を知る者すらまれである。忘れ去られる営みをなんですか。その時代の個人の個々の微分的業績の総体はその時代の科学技術ないし文化のレベルを現わしており、先生もその一端を輝かしく担った、と思う。

## 【参考文献】

- 1) 北里研究所編：「北里研究所二十五年誌」, p175 (北里研究所) (1939).
- 2) 北里研究所編：「北里研究所五十年誌」, p309 (北里研究所) (1966).
- 3) 藪田貞次郎：「故後藤格次会員追悼の辞」, 日本学士院紀 28 (1), 21 (1970).
- 4) 後藤格次：「シノメニンの研究」, 化学実験学, 第2部, 第13巻, 研究实例篇1, p380 (1944).
- 5) 後藤格次：「最近のシノメニンの研究」, 日本薬学会特別講演録, p1 (1948).
- 6) 後藤格次：「シノメニンの研究総説」, 化学の研究, 2, p48 (1948).
- 7) 後藤格次：「学問の理想」, 昭和25年3月25日東北大学学術試験合格証書授与式記念講演 (1950).
- 8) 後藤格次：「新制大学と化学教育」, 化学の領域, 5 (12), 673 (1951).
- 9) 佐橋佳一編：「山本 出、後藤格次：最近のモルフィン化学」, 生物化学最近の進歩 第1集, p108 (技報堂) (1955).
- 10) 後藤格次：「シノメニン研究四十年」, 日本大学薬学研究報告 2, 1 (1958).
- 11) 後藤格次：「北里研究所を去る」, 化学, 15, 44 (1960).
- 12) 後藤格次先生夫妻を囲む会記録
- 13) 山本 出：「研究余滴 - 若き日の思い出」, ハートの会会報 No.84, 20 (2016).

# 抗体医薬・再生医療分野のシングルユースバッグ対応に



## バッグ充てん液体培地／プロセス溶液

近年、抗体医薬品を中心としたバイオ医薬品の研究・開発や製造にシングルユースバッグが普及しています。この度、当社では液体培地やプロセス溶液をシングルユースバッグへ無菌的に充てんする設備を導入しました。ご要望に応じて当社商品以外でも液体培地及びバッファーなどのプロセス溶液をバッグに充てんし、ご提供します。ご希望の方は、当社代理店または、営業までお問合せ下さい。

**従来**

**粉末培地**



数十g～数百kg

**液体培地**



数百ml～1l

+

**新対応(液体培地)**

**sartorius**



数l～50l



数十l～数百l

**SEKISUI**



5l, 10l, 20l

写真提供：ザルトリウス・ジャパン(株)、積水成型工業(株)

※バッグは打ち合わせの上、決定します。

### 特長

- 国内製造のため短納期で対応可能
- 培地製造で培ったノウハウを生かした無菌充てん
- 受託製造品にも対応可能

### 製品概要

項目	内容
容量	1l、10l、200l（左記以外の容量は別途相談）
試験項目(一例) <sup>*1</sup>	外観、pH、浸透圧、無菌試験、エンドトキシン、マイコプラズマ、フィルター完全性試験
原料の変更管理	CultureSure <sup>®</sup> シリーズ <sup>*2</sup> 、製造専用、薬添規などの原料を使用時は可能
製造環境	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 生産用培地に求められる管理が可能</li> <li>● 製造ラインはすべてシングルユース製品を使用しているためコンタミのリスクが低い</li> </ul>

※1 試験項目は、お客様と相談の上、決定します。

※2 変更管理が可能な培養用原料

### 《細胞培養関連専用サイト～Culture-wako.com～》

おすすめの細胞培養関連商品をカテゴリー別にご紹介するサイトです。動物細胞・昆虫細胞・幹細胞・神経細胞・器具など項目ごとに紹介しています。

Culture-wako



Rf…2～10℃保存 F…20℃保存 C80…80℃保存 150…150℃保存 表示がない場合は室温保存です。  
 特定 毒1…特定毒物 毒2…毒物 劇1…劇物 劇2…劇物 毒薬…毒薬 劇薬…劇薬 危…危険物 向…向精神薬 特麻…特定麻薬向精神薬原料  
化審1…化審法 第一種特定化学物質 化審2…化審法 第二種特定化学物質 化禁1…化学兵器禁止法 第一種指定物質 化禁2…化学兵器禁止法 第二種指定物質 カルタヘナ…カルタヘナ法  
覚…覚せい剤取締法 国保…国民保護法  
 掲載内容は、2017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。

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. 85 No. 1  
 2017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

- 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  
Tel 1-804-714-1920 / Fax 1-804-271-7791
  - Wako Chemicals GmbH <http://www.wako-chemicals.de>  
European Office (Neuss, Germany) : Tel 49-2131-311-0 / Fax 49-2131-311100

● 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](mailto:jiho@wako-chem.co.jp)