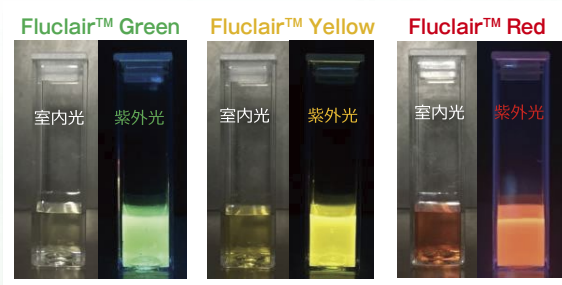


# 和光純薬時報

April 2018  
Vol.86 No.2



## 【総説】

「幹細胞標識用超低毒性量子ドット Fluclair™ 試薬の開発」  
 「LC/MS/MS を用いた水道水中農薬の一斉分析法」  
 「産業応用を見据えた高性能有機半導体材料の開発」

湯川 博、馬場 嘉信…………… 2  
 小林 憲弘…………… 5  
 岡本 敏宏…………… 10

## 【連載】

〈神経変性疾患研究の最前線〉

「第5回 パーキンソン病(1) 概論」

山門 穂高…………… 13

〈エクソソームと生命現象〉 **新連載**

「第1回 エクソソームとは？」

華山 力成…………… 16

〈The Gateway to qNMR ~定量 NMR への扉~〉 **最終話**

「第4話 日本及び海外の動向のご紹介」

三浦 亨…………… 19

〈核酸医薬合成 基礎講座〉

「第2回 オリゴヌクレオチド合成における保護・脱保護」

佐藤 健太郎…………… 22

## 【化学大家】

「レイス・W・アルヴァレスとウォルター・アルヴァレス」

桜井 弘…………… 33

## 【製品紹介】

### 有機合成

高性能有機半導体材料…………… 12  
 ÅKTA oligopilot 用核酸合成試薬…………… 24  
 帯電防止剤「KTFSM」…………… 25

### 分析

29種農薬混合標準液 水質 -9…………… 9  
 qNMR 用認証標準物質 (TraceSure®)…………… 21  
 ワコーシル® 60…………… 25  
 ポジティブリスト関連標準品…………… 25

### 免疫

抗 CD63, モノクローナル抗体 (3-13), フルオレセイン結合 …… 27  
 レビス® シリーズ…………… 31  
 活性型 GLP-1 ELISA キットワコー, 発光系…………… 32

### 遺伝子

EV-Save™ 細胞外小胞プロッキング試薬…………… 26

### 培養

幹細胞標識用「Fluclair™」…………… 4  
 抗 CPM, モノクローナル抗体 (WK)…………… 27  
 未分化マーカー抗体…………… 28  
 トランスフェリン (アボ), ヒト血液由来…………… 28  
 再生医療等製品材料適格性確認済「NeoSERA®」… 29  
 A-83-01, MF…………… 29  
 アクチビン A 溶液, ヒト, 組換え体…………… 30

### 細胞生物

透明化試薬「SCALEVIEW-S」…………… 30

## 【お知らせ】

社名及びラベルデザイン変更のお知らせ…………… 36

## 幹細胞標識用超低毒性量子ドット Fluclair™ 試薬の開発

名古屋大学 大学院工学研究科 生命分子工学専攻、名古屋大学 先端ナノバイオデバイス研究センター 湯川 博、馬場 嘉信

### はじめに

再生医療は、様々な幹細胞（iPS細胞、ES細胞、体性幹細胞など）から目的の細胞、組織、及び臓器を再構築し、それらを患者さんの体内に移植することで、これまで治療が極めて困難であった疾患の治療を可能とする。そのため、再生医療はこれまでの医療とは一線を画すものであり、全世界において非常に大きな期待を集めているのは言うまでもない。2006年に京都大学の山中伸弥教授が樹立されたiPS細胞が登場して約10年の月日が経過し、数多の再生細胞が樹立されており、現在、これらを再生医療に応用する研究が非常に盛んに進められている<sup>1)</sup>。本誌説では、幹細胞や再生細胞を簡便に高効率に標識し、移植後の幹細胞や再生細胞の生体内動態を蛍光イメージングで検出可能な超低毒性量子ドット Fluclair™ 試薬の開発経緯について紹介する。

### 再生医療実現への重要課題

再生医療においては、移植した幹細胞や再生細胞の患部への生着が治療効果に大きく反映されるため、移植細胞の生体内動態、組織・臓器への集積・生着効率を正確に診断することが、安全性や治療効果を高める上で極めて重要となる。そのため、再生医療の実現に向けては、生体イメージングによる画像診断技術が果たす役割は非常に大きい。しかし、移植細胞を生体内で高感度に検出して診断するための細胞イメージング手法の確立は十分ではないのが現状である。そのような現状において、注目を集めているのが蛍光イメージングである<sup>2)</sup>。

蛍光イメージングは細胞レベルからの高感度イメージングが可能であり、細胞移植治療を基盤とする現在の再生医療の発展にも大きく貢献すると期待されている。蛍光イメージングを実現

する上で重要となるのが蛍光プローブであるが、従来からの有機蛍光色素や蛍光タンパク質（GFPなど）は安定性や蛍光強度の問題があり、適用が困難であった。我々は、超高精細、超高感度、超長寿命、省エネ、低コストを実現し、4K、8Kディスプレイ材料として産業応用されている量子ドットに注目し、研究を進めてきた。しかし、量子ドットの幹細胞や再生細胞に対する簡便且つ高効率な標識方法に加え、一般的な量子ドットはカドミウムなどを含むことから、幹細胞や再生細胞に対する毒性の問題があった。従って、量子ドットを再生医療の研究に広く利用可能とするためには、簡便且つ高効率な標識手法の確立と超低毒性量子ドットを開発する必要があった<sup>3)</sup>。

### 量子ドットによる幹細胞標識手法

量子ドットによる幹細胞ラベリングは、細胞表面に量子ドットを結合させる方法、もしくは細胞内に導入する方法に大別される。我々は、長期間の安定的なイメージングを可能にするため、幹細胞内に量子ドットを導入してラベリングする手法を選択して検討を進めてきた。導入する方法としては、物理的や化学的手法が想定されるが、物理的手法であるエレクトロポレーションによる導入では、導入条件下において多くの幹細胞が死滅するのを確認し、利用が難しいことが分かった。化学的手法であり、細胞膜透過性が認められている正電荷のリポソームや膜透過性ペプチド（Cell Penetrating Peptide：CPP）による導入では、負電

荷を有する量子ドットと最適比で混合し、それらを細胞培養液に添加するだけで、簡便に導入されることを確認した。CPPは、プラスに帯電したアミノ酸であるアルギニン、リジンを中心に含むペプチド鎖であり、ヒト免疫不全ウイルス1型由来のペプチド（TAT）や単純ヘルペスウイルス由来のペプチド（VP22）などが良く知られている。今回富士フイルム和光純薬から発売される幹細胞標識用超低毒性量子ドット Fluclair™ 試薬では、合成したCPPを最適濃度に調製しており、量子ドット試薬と混合するだけですぐに利用できるように設計されている<sup>4)</sup>。

### Fluclair™ 試薬の開発

我々は幹細胞や再生細胞に使用できるカドミウムなどを含まない超低毒性量子ドットの開発を進めた。具体的には、これまで開発を進めてきた銀（Ag）、インジウム（In）、亜鉛（Zn）、硫黄（S）から構成されるZnS-ZAIS量子ドットの表面に<sup>5)</sup>、カルボキシル基を導入することで新たに水溶性を付与したZnS-ZAIS-COOH（Fluclair™）量子ドットの開発に成功した（図1-a）<sup>6)</sup>。なお、Fluclair™量子ドットはAg、In、Zn、Sの構成比を変えることで自在に蛍光波長を制御することが可能であり、まずは3種類のFluclair™（Fluclair™ Green（緑色蛍光：525nm）、Fluclair™ Yellow（黄色蛍光：565nm）、Fluclair™ Red（赤色蛍光：670nm））が発売される（図1-b）。

量子ドットは非常に優れた蛍光特性を示し、バイオイメージングに応用が

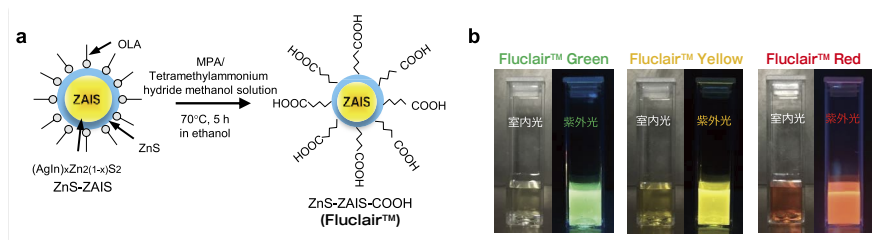


図1. Fluclair™量子ドットの合成方法とPBS中における蛍光写真

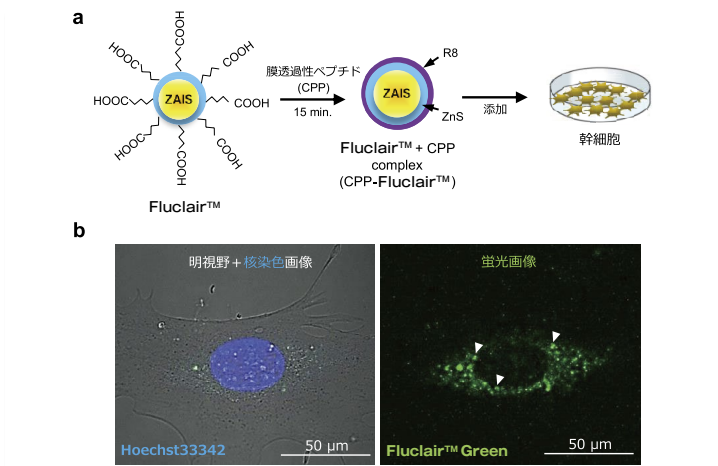


図2. Fluclair™量子ドットの細胞導入方法とFluclair™標識ASCs蛍光画像

期待されてきたが、殊に細胞導入に関しては技術構築が必要であり、利用が制限されてきた。しかし、Fluclair™量子ドットによる幹細胞や再生細胞の蛍光標識は極めて簡便に実施可能であることを確認した。Fluclair™量子ドットとCPPを最適比で混合した後、15分間静置させたものを幹細胞（今回は脂肪組織由来幹細胞（ASCs）を使用）に添加するだけで標識が可能であった（図2-a）。導入機構は主にエンドサイトーシス機構であり、添加1時間後から導入が認められるが、一晩静置させることで更に高効率に標識されることを確認した。導入されたFluclair™量子ドットは細胞膜を透過した後、核内には移行されず、細胞質内で安定に存在することを確認した（図2-b）。

また、量子ドットの幹細胞や再生細胞への標識において非常に重要な評価項目である細胞毒性をASCsを用いて評価した。最も代表的なカドミウムを含むコア・シェル型CdSe/ZnS量子ドット（CdSe/ZnS QDs）では、24 nM以上の濃度で標識するとASCsの生存率が有意差を持って減少することを認めた（図3-a）<sup>7)</sup>。しかし、Fluclair™量子ドットでは、少なくとも500 nMの濃度までASCsの生存率への影響を認めず（図3-b）、更に、毒性が認められない濃度範囲では、ASCsの自己増殖能、多分化能に影響を及ぼさないこ

とも確認した<sup>6)</sup>。これまでの研究結果から、細胞毒性に及ぼす量子ドット濃度は幹細胞の種類によって大きく異なる結果を認めておらず、Fluclair™量子ドットは幹細胞に対して超低毒性であり、極めて安全であることが示唆された。

### Fluclair™ 試薬の利用 - 移植幹細胞 *in vivo* 蛍光イメージング

我々は、Fluclair™量子ドットを用いて、移植幹細胞 *in vivo* 蛍光イメージングに取り組んだ。まず始めに、上記の方法で標識したC57BL/6マウス由来ASCsを脱毛処理した同系C57BL/6マウスの背中6か所に皮下移植した。移植直後に *in vivo* 蛍光イメージング

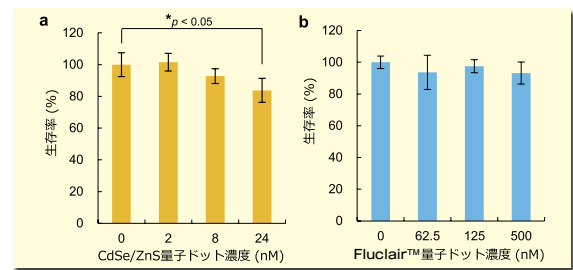


図3. CdSe/ZnS及びFluclair™量子ドットのASCsに対する細胞毒性

システム（IVIS LuminaK Series III）を用いて観察したところ、移植したASCs由来の蛍光を認め、移植細胞数に依存した蛍光強度の検出に成功した（図4-a）<sup>6)</sup>。次に、Fluclair™量子ドット標識したASCsを同系C57BL/6マウスの尾静脈に移植した。移植されたASCsは、10分後には肺及び肝臓に集積することを確認した。主要な5臓器（心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓）を切除して取り出し、*in vivo* 蛍光イメージングシステム（IVIS LuminaK Series III）を用いて観察しても、他の臓器への集積は認められず、移植されたASCsは、主に肺、肝臓に集積していることを確認した（図4-b）<sup>6,8)</sup>。

更に、多光子励起レーザー励起顕微鏡を用いて、各組織・臓器内の移植ASCsの1細胞観察を実施した。各組織・臓器の血管内皮細胞はAlexa Flour 488（緑色蛍光）で染色した。その結果、いずれも血管内皮細胞に接

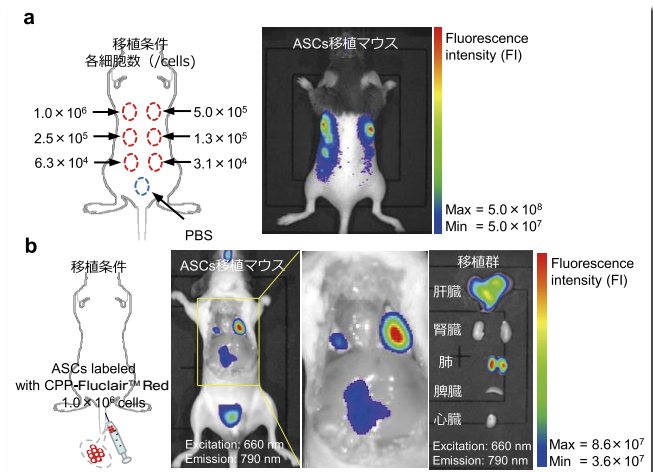


図4. Fluclair™量子ドット標識ASCsの *in vivo* 蛍光イメージング



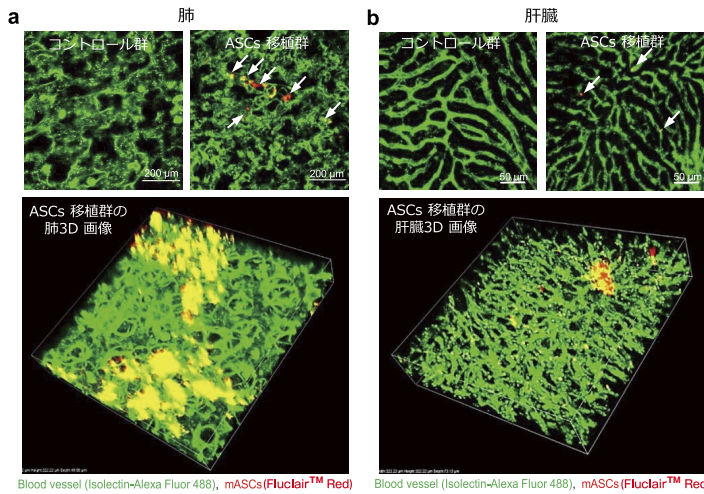


図5. Fluclair™量子ドット標識ASCsの組織・臓器内1細胞蛍光イメージング

着するような状態で集積しているものの、両臓器間においてASCsの集積状態に違いが認められ、肺では比較的集団でASCsが集積しているのを認めたのに対し、肝臓ではASCsのほとんどが1細胞状態で集積しているのを確認した。また、3D画像より組織・臓器内での分布についての情報を取得することにも成功した(図5-a, b)<sup>6)</sup>。このように、移植細胞の*in vivo* 蛍光イメージングにFluclair™試薬が有用であることを確認している。

## おわりに

我々は、Fluclair™量子ドットを用いて、移植幹細胞*in vivo* 蛍光イメージングに取り組んだ。冒頭にも述べたように、再生医療研究においては、移植幹細胞や再生細胞の生体内での挙動や集積・生着に関する解析・分析が非常に重要となっている。その中で、今

回紹介した*in vivo* 蛍光イメージングに応用が期待できる幹細胞標識用超低毒性量子ドットFluclair™試薬は非常に有効なツールの一つとして利用できると期待される。量子ドットは他の蛍光分子と比較して優れた蛍光特性を有しており、その特性は*in vivo* 蛍光イメージングへの応用において、特に発揮されるものと考えられる。また、本試薬は量子ドットのバイオ応用にスムーズに展開できるように設計されているため、これまで量子ドットの使用経験が乏しい研究者の方々にも、非常に簡便に使用頂ける仕様となっている。更に、本試薬は幹細胞以外の細胞にも応用が可能であると期待され、他の細胞治療研究を進める研究者の方にも広くご利用頂ければと考えている。

## 【参考文献】

- 湯川博、馬場嘉信：Drug Delivery System, 31, 135 (2016).
- 湯川博、馬場嘉信：Organ Biology, 24, 81

(2017).

- Onoshima, D., Yukawa, H. and Baba, Y.: *Adv. Drug Deli. Rev.*, **95**, 2 (2015).
- Yukawa, H. and Baba, Y.: *Anal. Chem.*, **89**, 2671 (2017).
- Torimoto, T., Adachi, T., Okazaki, K., Sakuraoka, M., Shibayama, T., Ohtani, B., Kudo, A. and Kuwabata, S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 12388 (2007).
- Ogihara, Y., Yukawa, H., Kameyama, T., Nishi, H., Onoshima, D., Ishikawa, T., Torimoto, T. and Baba, Y.: *Sci. Rep.*, **7**, 40047 (2017).
- Yukawa, H., Kagami, Y., Watanabe, M., Oishi, K., Kaji, N., Okamoto, Y., Tokeshi, M., Noguchi, H., Ono, K., Miyamoto, Y., Baba, Y., Hamajima, N. and Hayashi, S.: *Biomaterials*, **31**, 4094 (2010).
- Yukawa, H., Watanabe, M., Kaji, N., Okamoto, Y., Tokeshi, M., Miyamoto, Y., Noguchi, H., Baba, Y. and Hayashi, S.: *Biomaterials*, **33**, 2177 (2012).

## 量子ドット

半導体や金属などの結晶サイズが直径 20 nm 以下のナノ材料である。この大きさになると電子が限られた領域に閉じ込められた状態になることにより量子サイズ効果を示すようになる。この効果により、高量子収率、高輝度、高安定性、蛍光色制御の容易性といった蛍光特性を有する。

## 幹細胞

自己複製能と多分化能の2つの能力を有する細胞として定義されている。幹細胞には、我々の体に備わる体性幹細胞(骨髄、脂肪由来幹細胞など)や胚性幹細胞(iPS細胞、ES細胞など)があり、対象とする組織・臓器や疾患の種類によって、それぞれ使い分けられている。

## 再生細胞

iPS細胞や体性幹細胞から分化誘導されて獲得された分化細胞のこと。

## 幹細胞標識用超低毒性 高輝度イメージング試薬 Fluclair™

本品は、カドミウムを含まないため細胞に対する毒性が低い量子ドットです。そのため細胞内へ導入し、*in vivo* 蛍光イメージングに使用することができます。

| コード No.       | 品名               | 規格    | 容量    | 希望納入価格(円) |
|---------------|------------------|-------|-------|-----------|
| NEW 069-06791 | Fluclair™ Green  | 細胞染色用 | 250μL | 照会        |
| NEW 062-06801 | Fluclair™ Yellow | 細胞染色用 | 250μL | 照会        |
| NEW 069-06811 | Fluclair™ Red    | 細胞染色用 | 250μL | 照会        |

有償サンプル  
あります!

Wako



### 1 はじめに

水道水中の農薬類は、厚生労働省が検査対象農薬としてリストアップしている検査項目数が多く<sup>1)</sup>、またその検査方法が多岐にわたっているため<sup>2)</sup>、検出されるおそれのある農薬を全て検査しようとした場合、非常に大きな労力が掛かる。検出されるおそれのある農薬を簡便かつ一斉に分析可能な方法が開発できれば、検査労力を削減できるだけでなく、検査項目数を増やすことができるため、水道水の安全性の確保にも貢献できる。そこで、国立医薬品食品衛生研究所では、現在の標準検査法では固相抽出による前処理後にガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) や液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS) により測定を行っている農薬や、標準検査法がまだ設定されていない農薬を対象に、液体クロマトグラフィータンデム質量分析 (LC/MS/MS) による一斉分析法を検討した。さらに、一斉分析条件が確立できた農薬について、その分析精度を評価することで、水質検査に十分な精度が得られる方法であるかどうかを検討した。

### 2 分析条件の最適化

#### 2.1. 対象物質

厚生労働省が対象農薬リスト掲載農薬類 (120 物質)、要検討農薬類 (16 物質)、その他農薬類 (84 物質)、除外農薬類 (14 物質) としてリストアップしている農薬のうち、現在の標準検査法では、固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS で分析している農薬および標準検査法のない農薬 (合計 149 成分) を対象とした (表 1)。

#### 2.2. 分析条件の最適化

各農薬の個別標準液を用いて、スキャンモードにより各農薬のエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法による

表 1. 一斉分析法の検討対象とした農薬 (149 種類)

| 検査方法               | 農薬名  |
|--------------------|--|
| 別添方法 5             | EPN, EPN オキシオン, アトラジン, アニロホス, アラクロール, イソキサチオン, イソキサチオンオキシオン, イソフェンホス, イソフェンホスオキシオン, イソプロカルブ, イソプロチオラン, イプロベンホス, エスプロカルブ, エディフェンホス, エトフェンブロックス, エトリジアゾール, $\alpha$ -ベンゾエピン, $\beta$ -ベンゾエピン, エンドスルフェート, カフェンストール, キャプタン, CNP, CNP-アミノ体, クロルピリホス, クロルピリホスオキシオン, クロロタロニル, クロロネブ, ジクロベニル, ジクロロホス, ジスルホトン, ジチオビル, シマジン, ジメタメトリン, ジメトエート, シメトリン, ジメビペレート, ダイアジノン, ダイアジノンオキシオン, チオベンカルブ, テニルクロール, テルブカルブ, トリクロルホン, トリフルラリン, トルクロホスメチル, トルクロホスメチルオキシオン, ナプロパミド, ビフェノックス, ビペロホス, ビリダフェンチオン, ビリブチカルブ, ビリプロキシフェン, ピロキロン, フェニトチオン, MEP オキシオン, フェノブカルブ, フェントエート, フサライド, プタミホス, プタミホスオキシオン, ププロフェジン, フルトラニル, プレチラクロール, プロシミドン, プロピコナゾール, プロピザミド, プロモブチド, ベンシクロン, ペンディメタリン, ベンフルラリン, マラチオン, マラオキシオン, メタラキシル, メチダチオン, メチルダイムロン, メフェナセト, メプロニル, モリネート |
| 別添方法 5 の 2         | オリサストロピン, (5Z) -オリサストロピン, カズサホス, キノクラミン, シアノホス, シハロホップブチル, ピラゾキシフェン, プタクロール, ベンフレセート, ホスチアゼート, ピラクロホス, ホサロン, メトラクロール, ウニコナゾール P, クロルタルジメチル, クロルピリホスメチル, ジクロフェンチオン, ジメチルベンホス, シンメチリン, パクプロトラゾール, プロバホス, プロボキシル  |
| 別添方法 5<br>別添方法 18  | イプロジオン, フェンチオン, MPP オキシオン, MPP オキシオンスルホキシド, MPP オキシオンスルホン, MPP スルホキシド, MPP スルホン  |
| 別添方法 18            | 2, 4-D, アシュラム, アジキシストロピン, カルバリル, カルプロパミド, カルボフラン, ジウロン, シデュロン, ダイムロン, チウラム, チオジカルブ, トリクロビル, トリシクラゾール, ハロスルフロメチル, フィプロニル, フラザスルフロン, プロベナゾール, ベノミル (MBC), ベンスリド, ベンスルフロメチル, ベンタゾン, メコプロップ, メソミル  |
| 別添方法 19            | チオフアネートメチル, ベンフラカルブ  |
| 別添方法 18<br>別添方法 20 | オキシシン銅   |
| 別添方法 20            | アセフェート, ダラボン, ホセチル   |
| なし                 | エチプロール, テフリルトリオン, テフリルトリオン代謝物 B, メタアルデヒド, フェノキサニル, シフルトリン, シベルメトリン, トルフェンピラド, プロバルギット, <i>cis</i> -ベルメトリン, <i>trans</i> -ベルメトリン, メタミドホス, アミトラズ代謝物塩酸塩   |

別添方法 5 : 固相抽出-GC/MS 法、別添方法 5 の 2 : 固相抽出-GC/MS 法、別添方法 18 : 固相抽出-LC/MS 法、別添方法 19 : 固相抽出-LC/MS 法、別添方法 20 : LC/MS 法

ポジティブイオンおよびネガティブイオンモードのマススペクトルを測定し、最も強度の強いイオンをMRMモードにおけるプリカーサイオンとして選択した。次に、選択したプリカーサイオンから得られるプロダクトイオンのスキャンを行い、最も強度の強いイオンを定量イオンとして、2 番目に強度の強いイオンを確認 (定性) イオンとして選択した。スキャンモードによる分析で、最も強度の強いイオンが一つに絞れなかった場合は、複数のプリカーサイオンでプロダクトイオンスキャンを行い、最も強度の強いプロダクトイオンを定量イオンとして選択した。

各農薬のモニターイオンを決定後、混合標準液を用いて LC/MS/MS 一斉分析条件を検討した。最適化により確

立した LC/MS/MS 一斉分析条件を表 2 に、各農薬のモニターイオンを表 3 に示す。対象とした 149 農薬のうち 141 農薬の分析条件を確立できた。

キャプタン、クロロネブ、ジクロベニル、オキシシン銅、メタアルデヒド、シフルトリン、シハロホップブチルおよびクロルタルジメチルの 8 農薬は本分析条件下ではピークが検出できなかった。

この 141 農薬を 10  $\mu$ g/L に調製した混合標準液の SRM クロマトグラムを図 1 に示す。溶出時間が早いアシュラム (2.75 min)、ホセチル (2.81 min)、ダラボン (4.72 min)、メタミドホス (4.47 min) 等の数農薬についてはピーク形状が良好ではなかったが、その他の農薬については概ね良好なピーク形状と分離が得られた。

表2. LC/MS/MS一斉分析条件

| 項目       | 設定値   |
|----------|---|
| 装置       | Prominence UFLC (島津製作所)                                       |
| カラム      | L-column2 ODS<br>(2.0 mm I.D. × 150 mm, 粒径 3 μm, CERI)        |
| 移動相 A    | 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液  |
| 移動相 B    | 5 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液  |
| グラジエント条件 | B:10% (0 min) - 45% (7 min) - 80% (42 min) - 100% (46-51 min) |
| 流速       | 0.20 mL/min   |
| カラム温度    | 40°C  |
| サンプル温度   | 5°C   |
| 注入量      | 50 μL   |

| 項目     | 設定値  |
|--------|--|
| 装置     | LCMS-8050 (島津製作所)  |
| イオン化法  | ESI法 (ポジティブ/ネガティブイオンモード)   |
| プローブ電圧 | +4.5 kV (ESI ポジティブ) / -3.5 kV (ESI ネガティブ)  |
| MS/MS  | ネブライザーガス流量 1.5 L/min<br>ドラインガス流量 10 L/min<br>脱溶媒部 (DL) 温度 250°C<br>ヒートブロック温度 400°C |

表3. 各農薬の分析条件

| #  | ID   | 農薬名                 | 分子式   | 分子量   | RT (min) | イオン化 | モニターイオン (m/z) <sup>a</sup> | 目録値 1/100 (μg/L) | 添加濃度 (μg/L) 低 高 |
|----|------|---------------------|---|-------|----------|------|----------------------------|------------------|-----------------|
| 1  | 対002 | ダラポシ(2,2-DPA)       | C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                              | 143.0 | 4.72     | ESI- | 141 > 35 143 > 99          | 0.8              | 0.3 3           |
| 2  | 対003 | 2,4-D(2,4-PA)       | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                                | 221.0 | 14.22    | ESI- | 219 > 125 219 > 161        | 0.3              | 0.3 3           |
| 3  | 対004 | EPN                 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 323.3 | 39.63    | ESI+ | 324 > 296 324 > 157        | 0.04             | 0.03 0.3        |
| 4  |      | EPNオキソン             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P                             | 307.2 | 24.76    | ESI+ | 308 > 280 308 > 94         |                  | 0.03 0.3        |
| 5  | 対006 | アジュラム               | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                              | 230.2 | 2.75     | ESI- | 229 > 197 229 > 106        | 9                | 3 30            |
| 6  | 対007 | アセフェート              | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 183.2 | 5.42     | ESI+ | 184 > 143 184 > 49         | 0.06             | 0.03 0.3        |
| 7  | 対008 | アトラジン               | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>2</sub>   | 215.7 | 19.93    | ESI+ | 216 > 174 216 > 96         | 0.1              | 0.1 1           |
| 8  | 対009 | アミノホス               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClNO <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                           | 367.9 | 35.06    | ESI+ | 368 > 199 368 > 125        | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 9  | 対011 | アラクロール              | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClNO <sub>2</sub>   | 269.8 | 30.81    | ESI+ | 270 > 238 270 > 162        | 0.3              | 0.3 3           |
| 10 | 対012 | イソキサチオン             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 313.3 | 37.42    | ESI+ | 314 > 105 314 > 97         | 0.08             | 0.03 0.3        |
| 11 |      | イソキサチオンオキソン         | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P                             | 297.2 | 26.54    | ESI+ | 298 > 242 298 > 270        | 0.08             | 0.03 0.3        |
| 12 | 対013 | イソフェホス              | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 345.4 | 37.55    | ESI+ | 368 > 267 368 > 326        | 0.01             | 0.01 0.1        |
| 13 |      | イソフェホスオキソン          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P                             | 329.3 | 29.66    | ESI+ | 330 > 201 330 > 229        | 0.01             | 0.01 0.1        |
| 14 | 対014 | イソプロカルブ(MIPC)       | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                               | 193.3 | 20.07    | ESI+ | 194 > 95 194 > 77          | 0.1              | 0.1 1           |
| 15 | 対015 | イソプロチオラネ(IPT)       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>                               | 290.4 | 27.64    | ESI+ | 291 > 231 291 > 189        | 3                | 3 30            |
| 16 | 対016 | イプロベホス(BIP)         | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS   | 268.3 | 33.71    | ESI+ | 289 > 91 289 > 205         | 0.9              | 0.3 3           |
| 17 | 対019 | エスプロカルブ             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> NOS   | 285.4 | 42.72    | ESI+ | 266 > 91 266 > 71          | 0.3              | 0.3 3           |
| 18 | 対020 | エチベンメス(エチベンメス EDOP) | C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                              | 310.4 | 34.60    | ESI+ | 311 > 283 311 > 109        | 0.06             | 0.03 0.3        |
| 19 | 対021 | エトフェプロックス           | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S  | 376.5 | 49.87    | ESI+ | 394 > 177 394 > 359        | 0.8              | 0.3 3           |
| 20 | 対022 | エトリジアル(エトリジアル)      | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NOS   | 247.5 | 32.85    | ESI+ | 247 > 219 247 > 183        | 0.04             | 0.03 0.3        |
| 21 | 対023 | エンドスルファン(β-ベンゾエピ)   | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                            | 406.9 | 34.54    | ESI- | 419 > 287 419 > 359        | 0.1              | 0.1 1           |
| 22 |      | エンドスルファン(β-ベンゾエピ)   | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                            | 406.9 | 37.22    | ESI- | 419 > 287 419 > 359        |                  | 0.1 1           |
| 23 |      | エンドスルファン(γ-ベンゾエピ)   | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                            | 429.2 | 36.05    | ESI- | 421 > 97 421 > 97          | 0.1              | 0.1 1           |
| 24 | 対026 | オリザスロロシ             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                               | 391.4 | 28.22    | ESI+ | 392 > 205 392 > 116        | 1                | 1 10            |
| 25 |      | (5Z)-オリザスロロシ        | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                               | 391.4 | 30.04    | ESI+ | 392 > 205 392 > 116        |                  | 1 10            |
| 26 | 対027 | カササホス               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> PS <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                              | 270.4 | 38.53    | ESI+ | 271 > 159 271 > 131        | 0.006            | 0 0.03          |
| 27 | 対028 | カフエントロール            | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S  | 350.4 | 28.84    | ESI+ | 351 > 100 351 > 72         | 0.08             | 0.03 0.3        |
| 28 | 対030 | カルバリル(NAC)          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O  | 201.2 | 17.01    | ESI+ | 202 > 145 202 > 127        | 0.5              | 0.3 3           |
| 29 | 対031 | カルプロバド              | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N   | 334.7 | 34.92    | ESI+ | 334 > 139 334 > 139        | 0.4              | 0.3 3           |
| 30 | 対032 | カルブタン               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O  | 221.3 | 15.69    | ESI+ | 222 > 165 222 > 123        | 0.05             | 0.03 0.3        |
| 31 | 対033 | キノクラン(ACN)          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClNO <sub>2</sub>   | 207.6 | 14.31    | ESI+ | 208 > 105 208 > 77         | 0.05             | 0.03 0.3        |
| 32 | 対039 | クロロニロフェン(CNP)       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O                            | 318.6 | 36.62    | ESI+ | 320 > 288 319 > 93         | 0.001            | 0 0.01          |
| 33 |      | CNP-アミノ体            | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N   | 288.6 | 36.52    | ESI+ | 320 > 93 290 > 93          | 0.001            | 0 0.01          |
| 34 | 対040 | クロロピホスオキソン          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS            | 356.6 | 45.43    | ESI+ | 350 > 198 350 > 200        | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 35 |      | クロロピホスオキソン          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P             | 334.5 | 32.21    | ESI+ | 334 > 278 334 > 280        | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 36 | 対041 | クロロタロニル(TPN)        | C <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub>   | 265.9 | 27.90    | ESI- | 245 > 182 245 > 175        | 0.5              | 0.3 3           |
| 37 | 対043 | シアノホス(CYAP)         | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 243.2 | 20.60    | ESI- | 228 > 118 228 > 90         | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 38 | 対044 | ジウロン(DCMU)          | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O                             | 233.1 | 21.08    | ESI+ | 233 > 72 233 > 46          | 0.2              | 0.1 1           |
| 39 | 対046 | ジクロロボス(DDVP)        | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P                            | 221.0 | 15.19    | ESI+ | 221 > 109 223 > 109        | 0.08             | 0.03 0.3        |
| 40 | 対048 | ジメチルホス(エチルチオホス)     | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                              | 274.4 | 37.92    | ESI+ | 275 > 89 275 > 61          | 0.04             | 0.03 0.3        |
| 41 | 対051 | ジチオピリ               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub> | 401.4 | 41.17    | ESI+ | 402 > 354 402 > 224        | 0.09             | 0.03 0.3        |
| 42 | 対053 | シマジン(CAT)           | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>2</sub>  | 201.7 | 15.51    | ESI+ | 202 > 68 202 > 124         | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 43 | 対054 | ジメタリリン              | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S  | 255.4 | 33.45    | ESI+ | 256 > 186 256 > 68         | 0.2              | 0.1 1           |
| 44 | 対055 | ジメト                 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>               | 229.3 | 10.74    | ESI+ | 230 > 199 230 > 125        | 0.5              | 0.3 3           |
| 45 | 対056 | シメト                 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S  | 213.3 | 19.87    | ESI+ | 214 > 68 214 > 124         | 0.3              | 0.3 3           |
| 46 | 対057 | ジメバペート              | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> NOS   | 263.4 | 39.14    | ESI+ | 286 > 168 146 > 69         | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 47 | 対058 | ダイアジン               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS                            | 304.4 | 35.70    | ESI+ | 305 > 169 305 > 153        | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 48 |      | ダイアジンオキソン           | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P                             | 288.3 | 23.20    | ESI+ | 289 > 153 289 > 84         | 0.03             | 0.03 0.3        |
| 49 | 対059 | ダイムロン               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O  | 268.4 | 27.97    | ESI+ | 269 > 151 269 > 91         | 8                | 3 30            |
| 50 | 対062 | チラム                 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>                               | 240.4 | 15.02    | ESI+ | 241 > 88 241 > 120         | 0.2              | 0.1 1           |
| 51 | 対063 | チオカルブ               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>               | 354.5 | 18.05    | ESI+ | 355 > 88 377 > 64          | 0.8              | 0.3 3           |
| 52 | 対064 | チオフェネートメチル          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>                | 342.4 | 15.16    | ESI+ | 343 > 151 365 > 248        | 3                | 3 30            |
| 53 | 対065 | チオベンカルブ             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClNO <sub>2</sub> S   | 277.8 | 37.75    | ESI+ | 258 > 125 258 > 89         | 0.2              | 0.1 1           |
| 54 | 対066 | テルブカルブ(MBPMC)       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O  | 277.4 | 39.42    | ESI+ | 295 > 222 295 > 109        | 0.2              | 0.1 1           |
| 55 | 対067 | トリクロル               | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O                            | 256.5 | 15.64    | ESI- | 254 > 196 256 > 198        | 0.06             | 0.03 0.3        |
| 56 | 対068 | トリクロロホス(DEP)        | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P                            | 257.4 | 10.80    | ESI+ | 257 > 109 259 > 109        | 0.05             | 0.03 0.3        |
| 57 | 対069 | トリクラノール             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S  | 189.2 | 12.28    | ESI+ | 190 > 163 190 > 136        | 1                | 1 10            |
| 58 | 対070 | トリフルラリン             | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                | 335.3 | 46.82    | ESI+ | 336 > 236 336 > 252        | 0.6              | 0.3 3           |

| #  | ID   | 農薬名           | 分子式   | 分子量   | RT (min) | イオン化 | モニターイオン (m/z) <sup>a</sup> | 目録値 1/100 (μg/L) | 添加濃度 (μg/L) 低 高 |
|----|------|---------------|---|-------|----------|------|----------------------------|------------------|-----------------|
| 59 | 対071 | ナプロバド         | C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                 | 271.4 | 30.92    | ESI+ | 272 > 129 272 > 171        | 0.3              | 0.3 3           |
| 60 | 対073 | ピロホス          | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub> | 353.5 | 39.29    | ESI+ | 354 > 171 354 > 255        | 0.009            | 0 0.03          |
| 61 | 対075 | ピラジメタリリン      | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 403.3 | 35.13    | ESI+ | 403 > 91 405 > 91          | 0.04             | 0.03 0.3        |
| 62 | 対077 | ピラジメタリリン      | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS              | 340.3 | 28.91    | ESI+ | 341 > 189 341 > 205        | 0.02             | 0.01 0.1        |
| 63 | 対078 | ピロピチカルブ       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S               | 330.5 | 44.73    | ESI+ | 331 > 181 331 > 108        | 0.2              | 0.1 1           |
| 64 | 対079 | ピロキロン         | C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> NO  | 173.2 | 14.65    | ESI+ | 174 > 132 174 > 117        | 0.5              | 0.3 3           |
| 65 | 対080 | フィロニル         | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S               | 437.2 | 33.76    | ESI- | 435 > 330 435 > 250        | 0.005            | 0 0.03          |
| 66 | 対081 | フェントロチオン(MEP) | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS              | 277.2 | 27.43    | ESI+ | 278 > 125 278 > 246        | 0.1              | 0.1 1           |
| 67 |      | MEPオキソン       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P               | 261.2 | 16.28    | ESI+ | 262 > 104 262 > 216        |                  | 0.1 1           |
| 68 | 対082 | フェノピカルブ(BPMC) | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                 | 207.3 | 24.56    | ESI+ | 208 > 95 208 > 152         | 0.3              | 0.3 3           |
| 69 | 対084 | フェンチオン(MPP)   | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                | 278.3 | 35.14    | ESI+ | 279 > 247 279 > 169        | 0.06             | 0.06 0.6        |
| 70 |      | MPPオキソン       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> PS                             | 262.3 | 23.21    | ESI+ | 263 > 231 263 > 216        |                  | 0.03 0.3        |
| 71 |      | MPPオキシンスルホキド  | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS                             | 278.3 | 10.72    | ESI+ | 279 > 264 279 > 104        |                  | 0.03 0.3        |
| 72 |      | MPPオキシンスルホキド  | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS                             | 294.3 | 11.08    | ESI+ | 312 > 295 312 > 217        |                  | 0.03 0.3        |
| 73 |      | MPPスルホキド      | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                | 294.3 | 16.62    | ESI+ | 295 > 280 295 > 109        |                  | 0.03 0.3        |
| 74 |      | MPPスルホキド      | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                | 301.3 | 17.78    | ESI+ | 328 > 311 328 > 125        |                  | 0.03 0.3        |
| 75 | 対085 | フェントエート(PAP)  | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                | 320.4 | 33.92    | ESI+ | 321 > 247 321 > 275        | 0.07             | 0.03 0.3        |
| 76 | 対087 | フサライド         | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                  | 271.9 | 29.67    | ESI- | 271 > 243 269 > 241        | 1                | 1 10            |
| 77 | 対088 | ブタクロール        | C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> ClNO <sub>2</sub>                             | 311.9 | 43.77    | ESI+ | 312 > 238 312 > 57         | 0.3              | 0.3 3           |
| 78 | 対089 | ブタメホス         | C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS              | 332.4 | 37.48    | ESI+ | 333 > 96 333 > 180         | 0.2              | 0.1 1           |
| 79 |      | ブタメホスオキソン     | C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> P               | 316.3 | 28.57    | ESI+ | 317 > 244 317 > 216        |                  | 0.1 1           |
| 80 | 対090 | ブプロフェジン       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S               | 305.4 | 43.35    | ESI+ | 306 > 201 306 > 57         | 0.2              | 0.1 1           |
| 81 | 対092 | プレチラクロール      | C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> ClNO <sub>2</sub>                             | 311.9 | 39.97    | ESI+ | 312 > 252 312 > 147        | 0.5              | 0.3 3           |
| 82 | 対093 | ロキサジソン        | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 284.1 | 29.02    | ESI+ | 314 > 282 316 > 284        | 0.9              | 0.3 3           |
| 83 | 対095 | プロピコナゾール      | C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 342.2 | 35.40    | ESI+ | 342 > 159 342 > 69         | 0.5              | 0.3 3           |
| 84 | 対096 | プロピコナゾール      | C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O              | 256.1 | 27.25    | ESI- | 254                        |                  |                 |

| #   | ID  | 農薬名           | 分子式   | 分子量   | RT (min) | イオン化 | モニターイオン (m/z) <sup>®</sup><br>定量イオン | 確認イオン     | 目標値 1/100 (μg/L) | 添加濃度 (μg/L)<br>低 高 |
|-----|-----|---------------|---|-------|----------|------|-------------------------------------|-----------|------------------|--------------------|
| 116 | 他38 | (E)-ジメチルピビンホス | C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P              | 331.5 | 29.90    | ESI+ | 331 > 127                           | 333 > 127 | 0.1              | 0.1 1              |
| 117 | 他40 | シメチリン         | C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>                                 | 274.4 | 42.78    | ESI+ | 257 > 239                           | 257 > 105 | 1                | 1 10               |
| 118 | 他53 | トルフェンピラド      | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>               | 383.9 | 44.10    | ESI+ | 384 > 197                           | 384 > 154 | 0.1              | 0.1 1              |
| 119 | 他56 | バクロアトラゾール     | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>2</sub> O                            | 293.8 | 27.33    | ESI+ | 294 > 70                            | 294 > 125 | 0.5              | 0.3 3              |
| 120 | 他64 | フェノキサニル       | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 329.2 | 33.83    | ESI+ | 329 > 302                           | 329 > 86  | 0.2              | 0.1 1              |
| 121 | 他70 | プロバホス         | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> PS                             | 304.3 | 34.89    | ESI+ | 305 > 221                           | 305 > 141 | 0.01             | 0.01 0.1           |
| 122 | 他71 | プロバキゾト(BPPS)  | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> S                              | 350.5 | 46.77    | ESI+ | 368 > 231                           | 368 > 175 | 0.2              | 0.1 1              |
| 123 | 他73 | プロボキスル(PHC)   | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                 | 209.3 | 15.45    | ESI+ | 210 > 111                           | 210 > 93  | 2                | 1 10               |
| 124 | 他75 | cis-ベルメトリン    | C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                | 391.3 | 48.93    | ESI+ | 408 > 183                           | 351 > 319 | 1                | 0.5 5              |
| 125 | 他75 | trans-ベルメトリン  | C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                | 391.3 | 49.41    | ESI+ | 408 > 183                           | 351 > 319 | 0.5              | 5 5                |
| 126 | 他81 | メタドホス         | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS               | 141.1 | 4.47     | ESI+ | 142 > 94                            | 142 > 125 | 0.02             | 0.01 0.1           |
| 127 | 除01 | アゾキシストロピン     | C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>                 | 403.4 | 25.24    | ESI+ | 404 > 372                           | 404 > 344 | 5                | 3 30               |
| 128 | 除02 | イブロジオン        | C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 330.2 | 39.79    | ESI+ | 330 > 245                           | 330 > 288 | 3                | 2 20               |
| 129 | 除04 | シデュロン         | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O                              | 232.3 | 25.42    | ESI+ | 233 > 94                            | 233 > 137 | 3                | 3 30               |

| #   | ID  | 農薬名                                     | 分子式  | 分子量   | RT (min) | イオン化 | モニターイオン (m/z) <sup>®</sup><br>定量イオン | 確認イオン     | 目標値 1/100 (μg/L) | 添加濃度 (μg/L)<br>低 高 |
|-----|-----|---|--|-------|----------|------|-------------------------------------|-----------|------------------|--------------------|
| 130 | 除05 | テニルロール                                  | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>2</sub> S                            | 323.8 | 30.51    | ESI+ | 324 > 127                           | 324 > 59  | 2                | 1 10               |
| 131 | 除06 | トルクロホスメチル                               | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS               | 301.1 | 37.66    | ESI+ | 301 > 269                           | 301 > 125 | 2                | 1 10               |
| 132 |     | トルクロホスメチルオキソン                           | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P                | 285.1 | 25.27    | ESI+ | 287 > 109                           | 287 > 255 | 1                | 1 10               |
| 133 | 除07 | ハロスルフロメチル                               | C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>2</sub> S                            | 434.8 | 13.41    | ESI+ | 435 > 182                           | 457 > 178 | 3                | 3 30               |
| 134 | 除08 | ピフェックス                                  | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>  | 342.1 | 38.60    | ESI+ | 359 > 310                           | 359 > 342 | 2                | 1 10               |
| 135 | 除09 | ピリプロキシフェン                               | C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                  | 321.4 | 45.16    | ESI+ | 322 > 96                            | 322 > 78  | 3                | 3 30               |
| 136 | 除10 | フラザスルフロ                                 | C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S | 407.3 | 11.16    | ESI+ | 408 > 182                           | 452 > 200 | 0.3              | 0.3 3              |
| 137 | 除11 | フルトラニル                                  | C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | 323.3 | 27.87    | ESI+ | 324 > 262                           | 324 > 242 | 2                | 1 10               |
| 138 | 除12 | ベンスル(DAP)                               | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>                | 397.5 | 33.68    | ESI+ | 398 > 158                           | 398 > 314 | 1                | 1 10               |
| 139 | 除13 | ベンスルフロメチル                               | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                | 410.4 | 17.82    | ESI+ | 411 > 149                           | 411 > 182 | 5                | 3 30               |
| 140 | 除14 | ホセチル                                    | C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> AlO <sub>2</sub> P <sub>3</sub>                 | 354.1 | 2.81     | ESI- | 109 > 81                            | 109 > 63  | 20               | 10 30              |
| 141 |     | アミトラス代謝産物(W-2, 4-ジメチルフェニル-N-メチルホルムアミンジ) | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>                                 | 162.0 | 9.83     | ESI+ | 163 > 107                           | 163 > 106 | 0.06             | 0.03 0.3           |

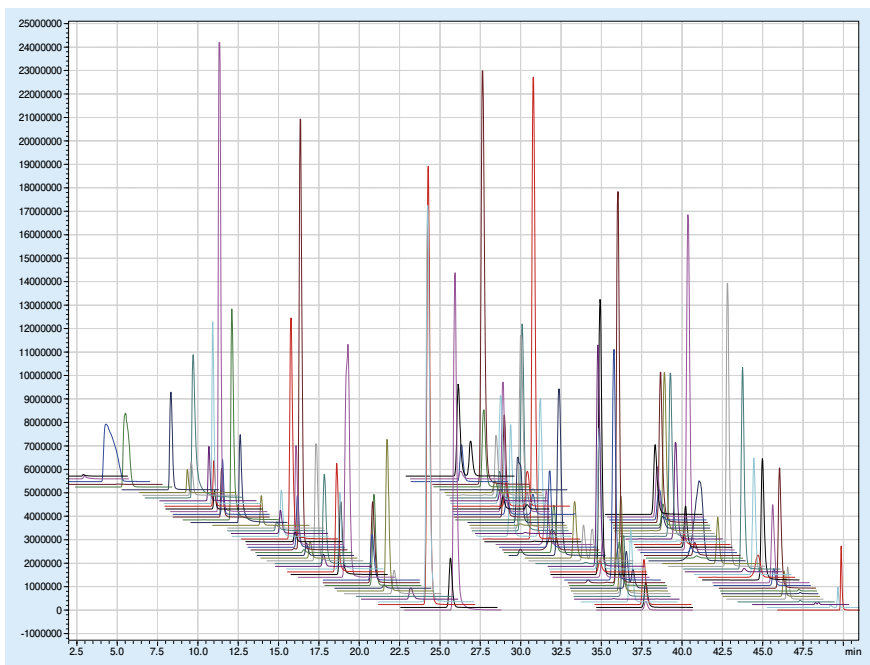


図1. 一斉分析条件が確立できた141農薬のLC/MS/MSクロマトグラム

### 3 妥当性評価

農薬類については、原則として目標値の1/100の濃度まで分析を行うこととされていることから、各農薬について目標値の1/10の濃度および1/100の濃度の2濃度となるように混合標準液を添加した水道水を調製した(添加濃度については表3に示した)。脱塩素処理剤の添加による分析結果への影響について知見を得るため、アスコルビン酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウムの2種類の脱塩素処理剤を使用し、結果を比較した。農薬混合標準液を脱塩素処理した水道水に上記の濃度とな

るように添加し、最適化した分析条件を用いて5併行で分析操作を行った。作成した検量線を用いて添加試料中の各農薬の濃度を求めた。

アスコルビン酸ナトリウム脱塩素水道水およびチオ硫酸ナトリウム脱塩素水道水における141農薬の添加回収試験結果をそれぞれ図2および図3に示す。また、それぞれの脱塩素処理剤を用いた際の妥当性評価のまとめを表4に示す。

いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、大部分の農薬について良好な真度および併行精度が得られた。アスコルビン酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた場合は、目標値の1/100

超1/10以下の濃度では129農薬が、目標値の1/100以下の濃度においても120農薬が妥当性評価ガイドライン<sup>3)</sup>の真度(70~130%)および併行精度(≤30%)の目標を満たした。チオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた場合は、目標値の1/100超1/10以下の濃度では126農薬が、目標値の1/100以下の濃度においても119農薬が妥当性評価ガイドラインの真度および併行精度の目標を満たした。

一部の農薬については、脱塩素処理剤の違いにより結果に違いがみられた。アシュラム、フラザスルフロ、ベンスルフロメチルの3農薬は、チオ硫酸ナトリウム添加試料のみで良好な結果が得られた。反対に、チオジカルブ、ハロスルフロメチル、ベンフラカルブ、メソミルの4農薬は、アスコルビン酸ナトリウム添加試料のみで良好な結果が得られた。これらの農薬は、脱塩素処理剤との反応によって分解あるいはイオン化阻害を受けたことが考えられる。

特に、フラザスルフロおよびベンスルフロメチルの2農薬については、アスコルビン酸ナトリウムを添加した試料では真度が低く妥当性を確保できなかったが、チオ硫酸ナトリウムを添加した試料では良好な結果が得られた。これらの農薬については、アスコルビン酸ナトリウムによる分解が報告されていることから、チオ硫酸ナトリウムによる脱塩素処理が望ましいと考えられる。



## 4 結論

水道水中の農薬類は、検査項目数が多く検査方法が多岐にわたっており、検査の労力が非常に大きいことから、水道水を LC/MS/MS に直接注入して一斉分析する方法が有用である。国立医薬品食品衛生研究所では、これまで固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS により測定を行っている農薬や、標準検査法がまだ設定されていない農薬を対象に、LC/MS/MS による一斉分析法を検討した。さらに、一斉分析条件が確立できた農薬について、その分析精度を評価することで、水質検査に十分な精度が得られる方法であるかどうかを検討した。

その結果、141 農薬について LC/MS/MS 一斉分析条件を確立することができた。さらに、これらの農薬を水道水に添加して試験を行ったところ、各農薬の目標値の 1/100 の添加濃度において、概ね 120 の農薬について良好な真度および併行精度を得ることができた。

本分析法の適用によって、水道水中の農薬をより簡便かつ効率的に検査することが可能になると考えられる。

### 【参考文献】

- 1) 厚生労働省，農薬類（水質管理目標設定項目 15）の対象農薬リスト（2003）。  
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/kijunchi.html>
- 2) 厚生労働省，水質管理目標設定項目の検査方法，平成 15 年 10 月 10 日付健水発第 1010001 号（最終改正 平成 29 年 3 月 28 日）（2017）。  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkouyoku/0000055189.pdf>
- 3) 厚生労働省，水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン，平成 24 年 9 月 6 日付健水発 0906 第 1 号別添（最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付健水発 1018 第 1 号）（2017）。  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkouyoku/0000181618.pdf>

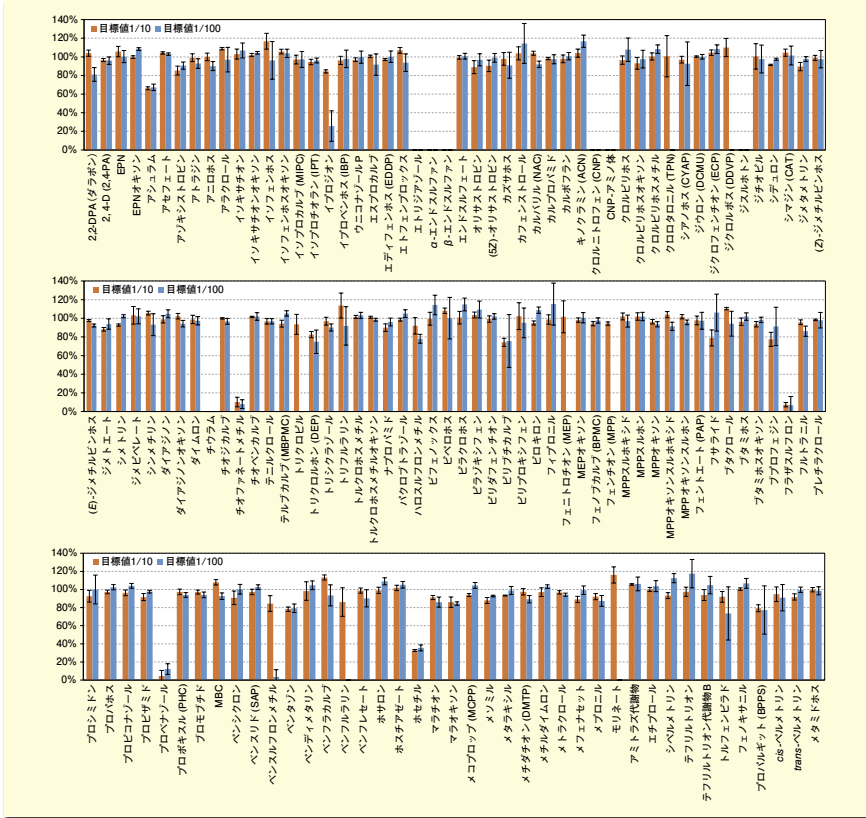


図2. アスコルビン酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた添加回収試験結果

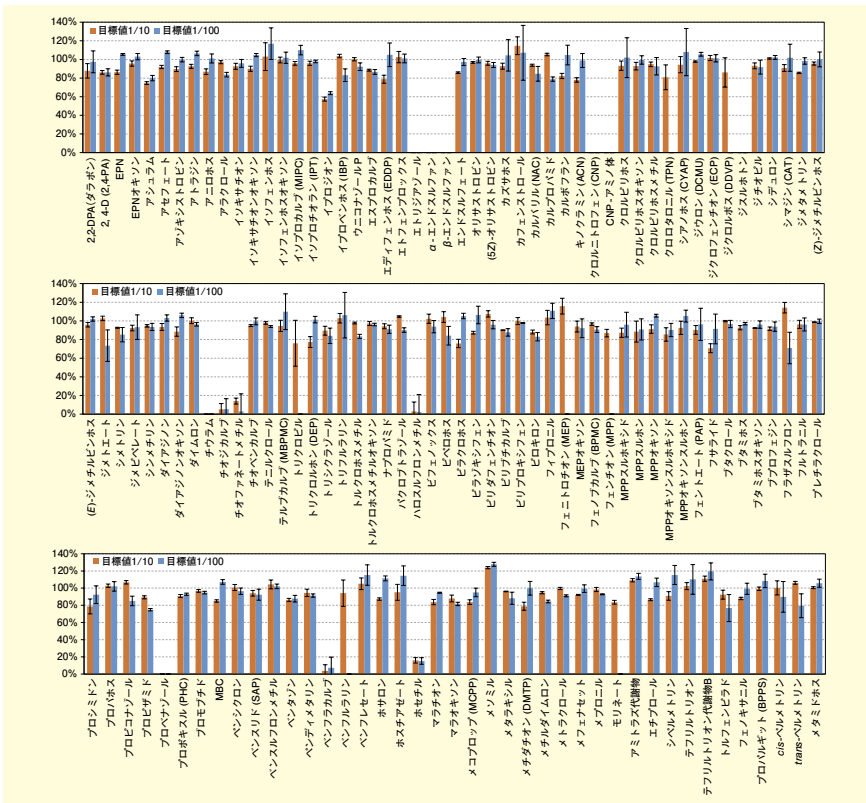


図3. チオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた添加回収試験結果

表4. 各脱塩素処理剤を用いた際の妥当性評価のまとめ

| 脱塩素処理剤       | 添加濃度      | 妥当性 OK | 妥当性 NG | N.D.  |
|--------------|-----------|--------|--------|-------|
| アスコルビン酸ナトリウム | 目標値 1/10  | 129 農薬 | 5 農薬   | 7 農薬  |
|              | 目標値 1/100 | 120 農薬 | 7 農薬   | 14 農薬 |
| チオ硫酸ナトリウム    | 目標値 1/10  | 126 農薬 | 7 農薬   | 8 農薬  |
|              | 目標値 1/100 | 119 農薬 | 7 農薬   | 15 農薬 |

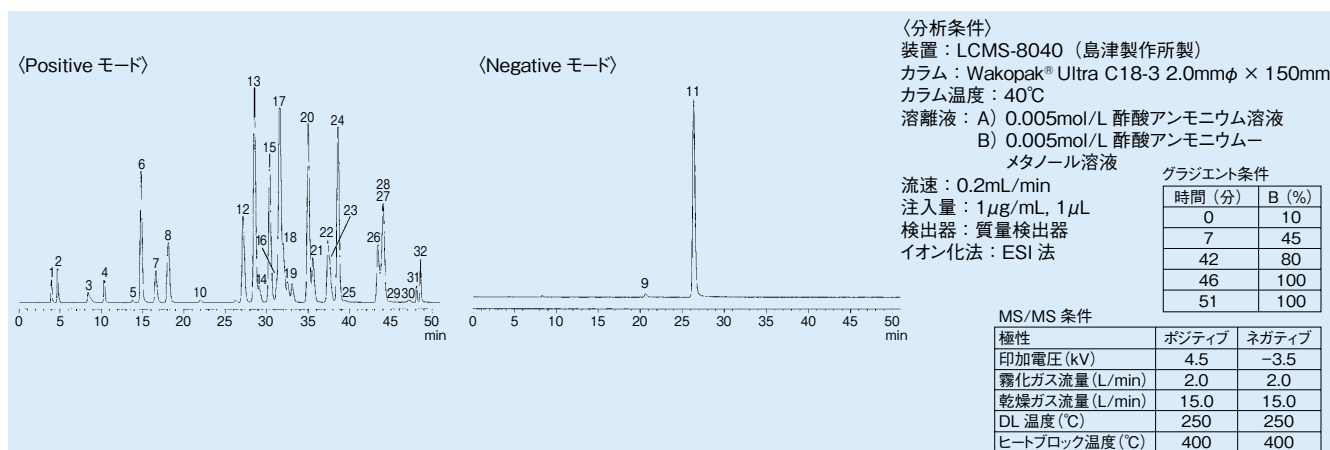
## 品目追加

Wako

### 29種農薬混合標準液 水質-9 (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液)

本品は、29種農薬混合標準液です。本品と農薬混合標準液 水質-1、2及び3を組合せることにより、P.5から掲載の総説において一斉試験法の開発が検討された対象農薬をおおむね網羅することができます (127種類)。

#### 分析例



注：記載されている測定条件、チャートなどは参考データであり、農薬混合標準液を保証するデータではありません。

#### 〈成分一覧(29種) (各20 $\mu$ g/mL)〉

| Peak No. | Constituent          | Monitoring Ions |         | Mode |
|----------|----------------------|-----------------|---------|------|
|          |                      | Precursor       | Product |      |
| 1        | Methamidophos        | 142             | 94      | +    |
| 2        | Acephate             | 184             | 143     | +    |
| 3        | Amitraz Metabolite   | 163             | 107     | +    |
| 4        | Tefuryltrione        | 460             | 262     | +    |
| 5        | Quinclamine (ACN)    | 208             | 105     | +    |
| 6        | Propoxur (PHC)       | 210             | 93      | +    |
| 7        | Carbaryl (NAC)       | 202             | 127     | +    |
| 8        | Fosthiazate          | 284             | 104     | +    |
| 9        | Cyanophos (CYAP)     | 228             | 118     | -    |
| 10       | Benfuresate          | 274             | 18      | +    |
| 11       | Ethiprole            | 395             | 330     | -    |
| 12       | Paclitrazol          | 294             | 125     | +    |
| 13       | Oryastrobin*         | 392             | 116     | +    |
| 14       | (Z)-Dimethylvinphos* | 331             | 127     | +    |
| 15       | (5Z)-Oryastrobin*    | 392             | 116     | +    |
| 16       | (E)-Dimethylvinphos* | 331             | 127     | +    |
| 17       | Metolachlor          | 284             | 176     | +    |
| 18       | Uniconazole P        | 292             | 125     | +    |
| 19       | Fenoxanil            | 329             | 86      | +    |
| 20       | Propaphos            | 305             | 221     | +    |
| 21       | Pyrazoxyfen          | 403             | 139     | +    |
| 22       | Pyraclufos           | 361             | 257     | +    |
| 23       | Phosalone            | 368             | 111     | +    |
| 24       | Cadusafos            | 271             | 159     | +    |
| 25       | Chlorpyrifosmethyl   | 322             | 125     | +    |
| 26       | Cimethylin           | 257             | 239     | +    |
| 27       | Butachlor            | 312             | 238     | +    |
| 28       | Tolfenpyrad          | 384             | 154     | +    |
| 29       | Dichlofenthion (ECP) | 315             | 259     | +    |
| 30       | Cypermethrin         | 433             | 416     | +    |
| 31       | trans-Permethrin*    | 408             | 183     | +    |
| 32       | cis-Permethrin*      | 408             | 183     | +    |

※オキサストロビン(Peak No.13)と(5Z)-オキサストロビン(Peak No.15)が各10 $\mu$ g/mL、合算で20 $\mu$ g/mL含有しています。ジメチルビンホスはE体(Peak No.16)とZ体(Peak No.14)が、ペルメトリンはtrans体(Peak No.31)とcis体(Peak No.32)が各10 $\mu$ g/mL、合算で20 $\mu$ g/mL含有しています。

| コード No.   | 品名  | 規格      | 容量     | 希望納入価格(円) |
|-----------|---|---------|--------|-----------|
| 160-28433 | 29種農薬混合標準液 水質-9 (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液) | 残留農薬試験用 | 1mL    | 16,000    |
| 164-28431 | 29種農薬混合標準液 水質-9 (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液) | 残留農薬試験用 | 1mL×5A | 42,000    |

#### 関連商品 別添方法20の2対応製品 (平成30年3月現在)

| コード No.   | 品名  | 規格   | 容量     | 希望納入価格(円) |
|-----------|---|------|--------|-----------|
| 168-26631 | 66種農薬混合標準液 水質-1-2                         | 残留農薬 | 1mL    | 19,000    |
| 164-26633 | (各20 $\mu$ g/mLアセトン溶液)                    | 試験用  | 1mL×5A | 59,000    |
| 169-23883 | 15種農薬混合標準液 水質-2                           | 残留農薬 | 1mL    | 10,000    |
| 163-23881 | (各20 $\mu$ g/mLアセトン溶液)                    | 試験用  | 1mL×5A | 30,000    |
| 166-23893 | 28種農薬混合標準液 水質-3 (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液) | 残留農薬 | 1mL    | 11,000    |
| 160-23891 | (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液)                 | 試験用  | 1mL×5A | 35,000    |
| 168-26011 | 63種農薬混合標準液 水質4 (各20 $\mu$ g/mLアセトニトリル溶液)  | 残留農薬 | 1mL    | 20,000    |
| 164-26013 | アセトニトリル溶液                                 | 試験用  | 1mL×5A | 60,000    |
| 164-27613 | 農薬混合標準液 水質-6 (各20 $\mu$ g/mLメタノール溶液)      | 残留農薬 | 1mL    | 9,000     |
| 168-27611 | メタノール溶液                                   | 試験用  | 1mL×5A | 18,000    |

Ⓕ…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、2018年4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

有機電界効果トランジスタ (OFET) は、機械的に柔軟かつ軽量、低コスト・低環境負荷の塗布プロセスによって作製可能な有機半導体材料を活性層に用いており、プリントド・フレキシブルデバイスなど次世代エレクトロニクスへの応用が期待されている。有機半導体材料の研究において、集積回路やセンサーなどの実デバイス応用による巨大な市場形成を実現するためには、デバイス性能の指標となるキャリア移動度 (以下、移動度と略す) の向上が不可欠である (図1参照)。高いキャリア移動度に加えて、材料として必要な化学的かつ熱的安定性、塗布プロセス可能な溶解性、素子作製プロセスや使用環境における高温条件下での素子の熱ストレス耐久性が求められる。既存の有機半導体は、ペンタセンなどの縮合多環芳香族骨格に嵩高い置換基<sup>1)</sup> やアルキル基<sup>2)</sup> が導入された分子構造をもっており、溶解性を付与できる一方で、結晶相の安定性が低下し、素子の熱ストレス耐久性が犠牲になっていた<sup>3)</sup>。つまり、溶解性の改善と素子の熱ストレス耐久性はトレードオフの関係にあり、これらの両立する有機半導体の開発が急務であった。

最近、我々はアルキル置換硫黄架橋V字型ビナフタレン (DNT-V) 誘導

体の屈曲型バイ共役系骨格が塗布単結晶薄膜で高い移動度と熱ストレス耐久性を有する OFET 材料として有望であることを報告している<sup>4)</sup>。しかしながら、DNT-V およびそのアルキル置換体はイオン化ポテンシャルが5.46 eVと高く、デバイスが伝導し始める電圧 (駆動電圧) が大きい問題があった。また、DNT-V 骨格への直接の置換基導入は位置選択性が悪く、さまざまな誘導体の合成展開が容易ではなかった。ごく最近、我々はビナフタレンの両末端のベンゼン環をチオフェン環に置き換えたチエノ [3,2-*f*:4,5-*f'*] ビス [1] ベンゾチオフェン (TBBT-V, 図2a) 骨格に着目した。TBBT-V は DNT-V と同様の軌道形態を有することから DNT-V 同様の高移動度半導体材料として期待され、ダイポールモーメントの増大による溶解性の向上が期待できる。また、TBBT-V は末端のチオフェン環の  $\alpha$  位プロトンが他のプロトンよりも反応性が高いため、各種置換基を選択的に導入可能であり、これにより、各種化合物の誘導化、集合体構造、溶解性、デバイス特性のチューニングが可能となる。さらに、 $\alpha$  位の軌道係数の寄与が大きいため、置換基の導入により HOMO レベルを浅くすることが可能となり、DNT-V 骨格で問題であった駆動電圧の改善も期待できる (図2b)。

本稿では二種類のアルキル鎖を有する TBBT-V 誘導体の合成およびそれらの基礎物性、集合体構造、蒸着膜および塗布膜のトランジスタ特性<sup>5)</sup> について解説する。

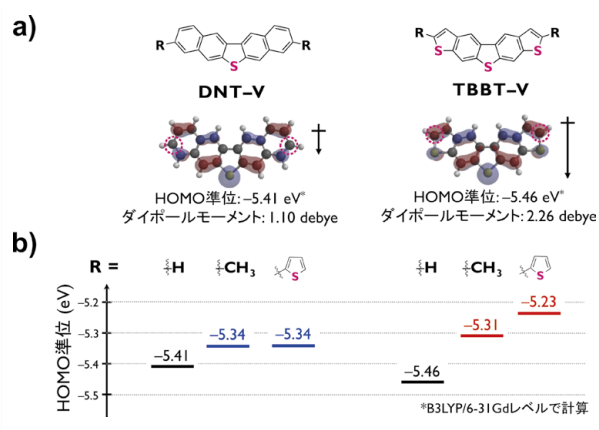
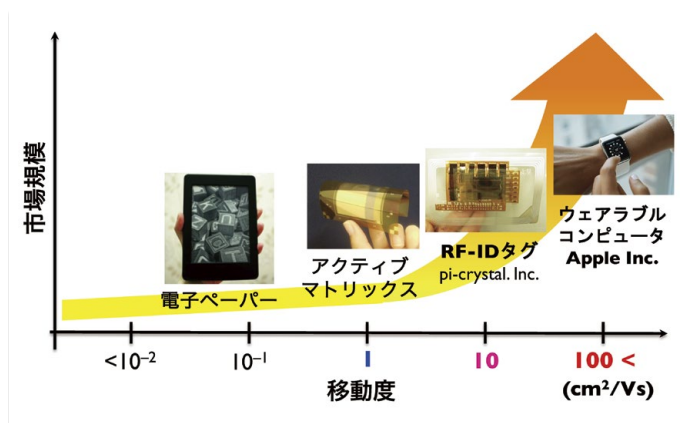
### 合成

TBBT-V 骨格は、Necker らにより報告されている手法に従い、合成を行った<sup>6)</sup>。両末端チオフェンの  $\alpha$  位のプロモ化を経て、ブチル、デシル誘導体およびデシルチエニル誘導体を良好な収率で得た (スキーム1)。

### 大気・熱安定性評価と集合体構造解析

得られた有機半導体について、紫外可視分光光度計を用いて、化学的安定性の評価を行った。一分子の安定性を評価するために溶液の、また固体の安定性を評価するために 100 nm 程度の厚みの薄膜の UV-vis 吸収スペクトルの経時変化を試料調製直後から約2週間後まで測定した。すべての試料は大気中で保管していたが、いずれの分子においても、2週間ではスペクトルに変化は見られず、すべての TBBT-V 誘導体は溶液および固体中で化学的に安定であることがわかった。

有機半導体材料の熱的挙動を評価す





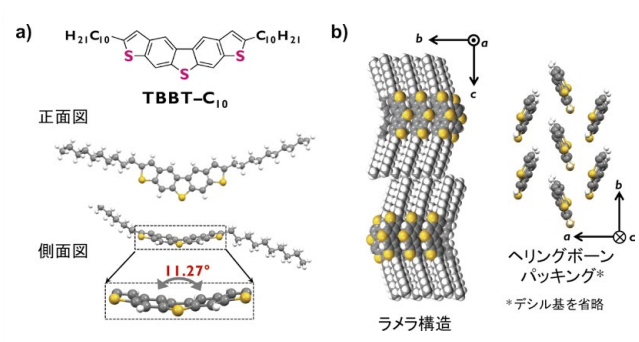
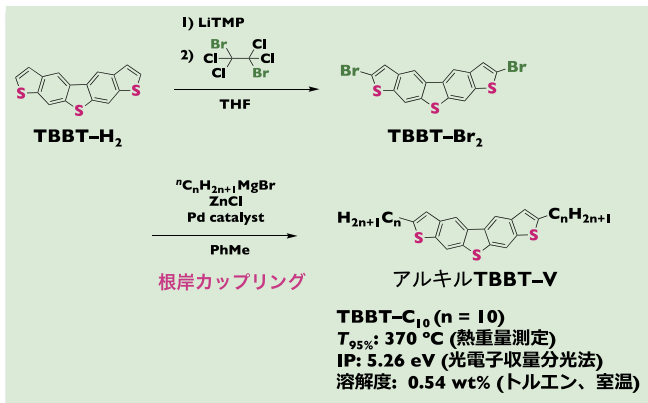


図3. TBBT-C<sub>10</sub> 結晶中の a) 分子構造と b) 集合体構造

スキーム 1. アルキル TBBT-V の合成

るために、熱重量測定 (Thermogravimetry, TG) と示差熱分析 (Differential Thermal Analysis, DTA) の同時測定 (TG-DTA 測定) を行った。測定の結果、一連の化合物は分解することなく、昇華もしくは融解後に蒸発することがわかった。このことから、得られた誘導体は化学的かつ熱的に安定な分子群であり、再結晶や昇華精製を繰り返すことで純度の向上が可能であった。

つづいて、溶液から単結晶を作製し、X 線構造解析装置を用いて分子集合体構造解析を行った。TBBT-V 誘導体は分子軌道計算により最適化された分子構造では平面分子となるが、単結晶中ではすこし折れ曲がった構造 (11.27°) を有し、これはこれまで報

告されている棒状パイ電子系には見られない屈曲型パイコア特有の構造である (図 3a)。また、パッキング構造は層間でラメラ構造を形成し、層内では二次元伝導に有利なヘリングボーン型構造 (図 3b) を形成していることがわかった。

### 薄膜の作製とトランジスタ特性評価

一連の化合物の半導体特性は、蒸着法もしくは塗布法により薄膜を作製し、有機電界効果トランジスタ (OFET) で評価した。特に、単結晶薄膜での評価は、集合体構造と伝導性との関係を明らかにできるだけなく、外因的な結晶境界がないため、半

導体分子の本来の伝導性を評価できる利点がある。有機半導体単結晶薄膜は、筆者らの研究室で開発した塗布結晶化法であるエッジキャスト法<sup>7)</sup>により作製した (図 4a)。

得られた薄膜上に、メタルマスクを通して F<sub>4</sub>-TCNQ (1-2 nm) と Au を順に蒸着し、ソースおよびドレイン電極を作製した (図 4b)。F<sub>4</sub>-TCNQ は強力な電子受容性分子であり、ソース電極からの正孔の注入を促進する働きがある<sup>8)</sup>。なお、デバイス測定は大気中室温下で行った。

典型的なトランジスタ特性として、TBBT-C<sub>10</sub> の単結晶デバイスの伝達特性および出力特性を図 4c-d に示した。一連の化合物のトランジスタは、いずれも負のゲート電圧の印加時にドレイン電流が増加しており、正孔が伝導する p 型トランジスタとして動作することがわかった。特に C<sub>n</sub>-

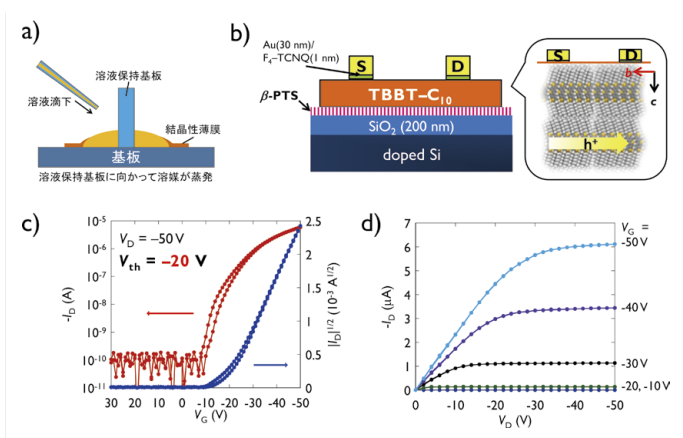


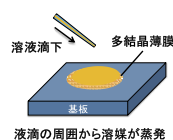
図 4. a) エッジキャスト法概念図、およびアルキル TBBT-V 塗布結晶トランジスタの b) 素子構造 (insert) 半導体分子の集合体構造、c) 伝達特性、d) 出力特性

表 1. アルキル TBBT-V の各種トランジスタの素子特性のまとめ

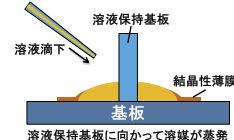
| 製膜法       | 基板温度 (°C) | $\mu_{\max}$ (cm <sup>2</sup> /Vs) <sup>a</sup> | $V_{th}$ (V) <sup>b</sup> | $I_{on} / I_{off}$ |
|-----------|-----------|---|---------------------------|--------------------|
| ドロップキャスト法 | 40        | 4.0   | -21 ~ -37                 | 10 <sup>6</sup>    |
| エッジキャスト法  | 40        | 6.2   | -15 ~ -20                 | 10 <sup>6</sup>    |
| 真空蒸着      | 60        | 1.8   | -15 ~ -20                 | 10 <sup>6</sup>    |
|           | 100       | 1.0   | -15 ~ -20                 | 10 <sup>6</sup>    |

a) 飽和領域で評価、b) ゲート絶縁膜は200nm厚のSiO<sub>2</sub>

ドロップキャスト法



エッジキャスト法



TBBT-V の単結晶薄膜トランジスタは  $5 \text{ cm}^2/\text{Vs}$  を超える世界最高レベルの移動度を示し、また、DNT-V と比較して明らかな閾値電圧の改善が見られ、有機半導体材料として高いポテンシャルを有していることを明らかにした (表1)。

## おわりに

本稿において、筆者らが最近新たに開発した V 字型パイコアである TBBT-V について述べた。これら一連の TBBT-V を母骨格とした有機半導体分子群は、有機合成化学の学術的イノベーションを基盤とし、かつ実用化での適性に優れた化合物群である。即ち、プリントドエレクトロニクス応用に不可欠な、高化学安定性、高熱安定性、高溶解性、高移動度を有し、しかも簡便かつ効率的な手法で合成可能な材料である。このように、TBBT-V 誘導体は、有機エレクトロニクス分野に新しい潮流を起こすに違いなく、次世代エレクトロニクス産業の戦略物質となりうる。

## 謝 辞

本稿の成果は、多くの共同研究者の協力のもと成し得たものである。また、本稿の一部は、科学研究費補助金基盤研究 B (No. 25288091, 17H03104)、科学技術振興機構さきがけ「分子技術と新機能創出」領域 (加藤隆史研究総括) (No. JPMJPR13K5)、富士フィルム株式会社の支援により進められたものである。ここに深く感謝申し上げます。



### キャリア移動度 (移動度)

電荷 1 個あたりの伝導率であり、半導体中での電荷の移動しやすさの指標となる。値が大きいほど伝導しやすいことを意味する。易動度と表記される場合もある。

### プリントド・フレキシブルデバイス

プラスチックのような機械的に柔軟な電子機器をインクジェットプリンタや判子のような印刷プロセスによって作製する技術はプリントド・フレキシブルエレクトロニクスとよばれる。これを実現する材料として、溶媒に溶け、プラスチックのように柔らかい有機半導体が注目されている。

## 【参考文献】

- 1) Anthony, J. E. *et al.* : *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 9482 (2001).
- 2) Takimiya, K. *et al.* : *Adv. Mater.*, **23**, 1222 (2011).
- 3) Iino, H. *et al.* : *J. Non-Cryst. Solids*, **358**, 2516 (2012).
- 4) Okamoto, T. and Takeya, J. *et al.* : *Adv. Mater.*, **25**, 6392 (2013).
- 5) Okamoto, T. *et al.* : *J. Mater. Chem. C*, **5**, 1903 (2017).
- 6) Neckers, D. C. *et al.* : *J. Org. Chem.*, **70**, 4502 (2005).
- 7) Takeya, J. *et al.* : *Appl. Phys. Express*, **2**, 111501 (2009).
- 8) Minari, T. *et al.* : *Appl. Phys. Lett.*, **94**, 093307 (2009).

### パイ電子系

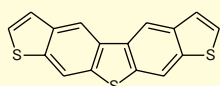
炭素原子による主骨格を有し、一重結合と二重結合が交互に連なった共役二重結合をもつ化合物。特に、環状の共役二重結合を形成し芳香族性を有する化合物は芳香族化合物と呼ばれる。

### 分子軌道

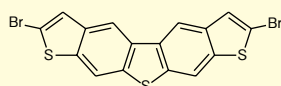
分子内を運動する電子の空間分布を表す。有機半導体では、隣接する分子との分子軌道の重なりを介して電荷が伝導する。

## 高機能有機半導体材料

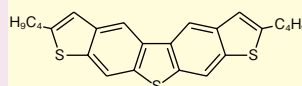
Wako



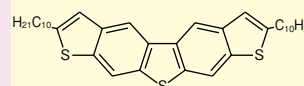
$\text{C}_{16}\text{H}_8\text{S}_3=296.43$   
CAS RN® 74902-84-4  
1



$\text{C}_{16}\text{H}_6\text{Br}_2\text{S}_3=454.22$   
CAS RN® 1810008-47-9  
2



$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{S}_3=408.64$   
CAS RN® 1810008-49-1  
3



$\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{S}_3=576.96$   
CAS RN® 1810008-48-0  
4

| No.              | コード No. | 品 名       | 規 格                  | 容 量      | 希望納入価格(円) |     |
|------------------|---------|-----------|----------------------|----------|-----------|-----|
| 近<br>日<br>発<br>売 | 1       | 204-20801 | TBBT-H <sub>2</sub>  | 機能性有機材料用 | 250mg     | 照 会 |
| 近<br>日<br>発<br>売 | 2       | 201-20811 | TBBT-Br <sub>2</sub> | 機能性有機材料用 | 250mg     | 照 会 |
| 近<br>日<br>発<br>売 | 3       | 208-20821 | TBBT-C <sub>4</sub>  | 機能性有機材料用 | 100mg     | 照 会 |
| 近<br>日<br>発<br>売 | 4       | 205-20831 | TBBT-C <sub>10</sub> | 機能性有機材料用 | 100mg     | 照 会 |

☑️…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、2018年4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。

## 第5回 パーキンソン病 (1) 概論

京都大学大学院医学研究科 臨床神経学 (神経内科) 山門 穂高

### はじめに

パーキンソン病 (Parkinson's Disease, PD) は臨床的には運動症状を中心としたパーキンソン症状を呈し、病理学的にはレビー小体とドパミン神経細胞死を認める神経変性疾患である。十万人当たり 100-150 人の有病率であり、本邦では 15-20 万人の患者がいると推定され、アルツハイマー型認知症に次いで多い神経変性疾患である。これまで遺伝性 PD 研究から様々な発症メカニズムが研究されてきたが、最近では Braak らの病理学的研究やレビー小体の主成分である  $\alpha$  シヌクレインの生化学的性質から、PD をプリオン病の一種として捉える考え方も出てきている。本稿では、病態生理とそれに基づく治療薬や早期バイオマーカーの開発を中心として概説する。

### PD の臨床・病理像

振戦・固縮・無動・姿勢反射障害など、PD の 4 大徴候といわれる運動症状を認めるが、初期には無動・姿勢反射障害などは認めないことが多い。また、嗅覚低下やレム睡眠関連行動異常症 (REM sleep behavior disorder; RBD)、便秘・頻尿・起立性低血圧などの非運動症状を伴うことが多く、場

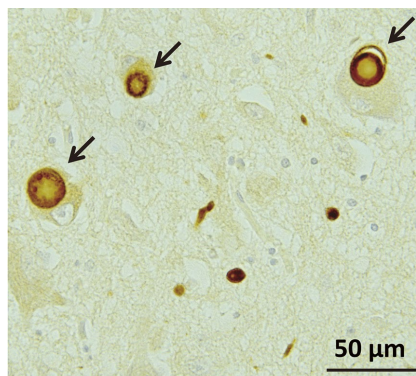


図 1. PD 患者の中脳黒質に認められたレビー小体。抗リン酸化  $\alpha$  syn 抗体染色。(京都大学神経内科・綾木孝先生ご提供)

合によってはこれらは運動症状に先立って出現することもある。

病理学的には神経細胞内にレビー小体とよばれる封入体を認め、その主成分は  $\alpha$  シヌクレイン ( $\alpha$  synuclein;  $\alpha$  syn) というタンパク質の凝集体である (図 1)。多数の剖検脳の検討から、レビー小体は脳幹の迷走神経背側核や嗅球、あるいは末梢の自律神経より始まり、脳幹においては上方に進展して青斑核・縫線核、黒質に至り、さらに大脳皮質に至ると想定されている<sup>1)</sup> (図 2)。対応する症状として、末梢の自律神経の障害により、便秘や頻尿、起立性低血圧が出現し、中枢神経においては青斑核・縫線核の障害はうつや睡眠障害などの非運動症状を引き起こす<sup>2)</sup>。その後黒質ドパミン神経の障害が出現して初めてパーキンソン症状が出現し、さらに進行すると大脳皮質の症状として認知症が出現する。そして  $\alpha$  syn の蓄積部位と細胞死の部位はある程度相関することが知られている。このように特に初期においては、特定の細胞群にレビー小体と細胞死を認めるのが PD の病理学的な特徴である。

### PD の病態生理

#### ① 家族性 PD における知見

PD の発症メカニズムに関しては、1990 年代後半からは主として家族性 PD の知見から研究が進められてきた。現在 20 以上の家族性 PD 遺伝子が同定され、その他にいくつかの疾患感受性遺伝子も同定されている。家族性 PD 遺伝子はその役割や機能によっていくつかに分類される。一つはレビー小体の構成成分である  $\alpha$  syn に直接関連したものであり、 $\alpha$  syn 遺伝子の点変異や重複により  $\alpha$  syn の凝集性が高まることによってレビー小体の形成と細胞死が引き起こされると考えられている<sup>3,4,5)</sup>。その他、parkin はじめとするミトコンドリア機能維持に関連するもの、小胞輸送に関連するもの、タンパク質分解系に関与するものなどが挙げられる。家族性 PD の中にはパーキンソン症状とドパミン神経細胞死を認めるがレビー小体を欠くもの、あるいはレビー小体を持っていてもその進展・分布が孤発性 PD と異なるものもあり、そこで得られた知見が孤発性 PD に応用できるかどうかには注意が

### PD 病理は下位脳幹から連続性上行する (Braak 仮説)

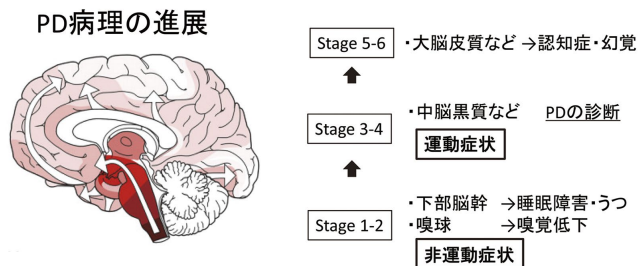


図 2. PD 病理は嗅球や下部脳幹の迷走神経背側核より始まり、脳幹においては上方に進展して青斑核・黒質に至り、さらに大脳皮質に至ると想定されている<sup>18)</sup>。対応する症状として、青斑核を始めとする下部脳幹の障害はうつや睡眠障害などの非運動症状を引き起こす。黒質ドパミン神経の障害が出現して初めてパーキンソン症状が出現し、さらに進行すると大脳皮質の症状として認知症が出現する。全経過は 20 年、あるいはそれ以上と考えられている。

本シリーズの企画・構成に際し、東京大学大学院医学系研究科 岩坪威先生にご助言頂きました。



必要である。この点で、 $\alpha$  syn 遺伝子の2重複による家族性PDは臨床・病理学的に孤発性PDと非常に類似性が高く<sup>4,5)</sup>、 $\alpha$  syn タンパク質の量的な変化が孤発性PDにおいても重要であることが示唆される。

### ②孤発性PDにおけるGWASとrare variants

孤発性PDのゲノムワイド関連解析 (Genome-Wide Association Study ; GWAS) から重要な知見が得られている。ここでも、 $\alpha$  syn や LRRK2 といった家族性PDの原因遺伝子の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms ; SNPs) がリスクとして同定され<sup>6,7)</sup>、これらのタンパク質は孤発性PDの発症にも深く関わっていることが想定される。その他、タウ蛋白をコードする MAPT や免疫に関わる HLA が同定されているが、詳細なメカニズムまでは分かっていない。ただし、これらの発症の odds 比は 1.3 程度である。また、近年稀なりソソム蓄積病の一種であるゴーシェ病の家に PD の発症率が高いという報告に端を発して、ゴーシェ病の原因遺伝子である Glucocerebrosidase (GBA) のヘテロ変異が odds 比 5.43 の強力な PD 発症のリスク因子であることが判明している<sup>8)</sup>。この変異は健常人では 1% 以下の頻度でしかみられないが (いわゆる rare variants)、本邦では PD 患者の約 10% がこのヘテロ変異を

有すると報告されており<sup>9)</sup>、頻度・odds 比とも比較的高い重要なリスク因子であると考えられる (図3)。詳細なメカニズムは不明であるが、GBA はリソソーム内の脂質分解酵素であり、その基質の蓄積を介してリソソームの機能低下、さらには  $\alpha$  syn の蓄積を引き起こすのではないかと推測されている<sup>10)</sup>。

### ③PDのプリオン仮説

病理学的解析と  $\alpha$  syn の生化学的解析からも PD の発症・進展のメカニズムが考察されている。前述のように、 $\alpha$  syn の蓄積はそれぞれ嗅粘膜・腸管で外界と接する嗅球や迷走神経背側核から始まり、連続性に進展することが主に死後脳の連続剖検例の検証から知られていたが、近年  $\alpha$  syn が prion 様の性質を持つことが知られてきた。すなわち、 $\beta$  sheet などの異常な二次構造を持つ難溶性タンパク質が次々と周囲の正常タンパク質の構造を異常に変化させながら伝播するというものである。レビー小体中の  $\alpha$  syn はまさに  $\beta$  sheet 構造を持ち、実際に人工的に精製した  $\alpha$  syn を 37℃ で振とうさせて作製した  $\alpha$  syn の  $\beta$  sheet 構造をもつ

polymer をマウス脳に接種すると、脳内で prion の性質を発揮して細胞間を伝播することが実験的に確かめられた<sup>11)</sup>。このことから、一つの仮説として、外界からの何らかの刺激で  $\alpha$  syn の凝集・構造異常が下部脳幹や嗅球で生じ、これが 10 年以上かけて緩やかに進展するというモデルが考えられた。これが PD のプリオン仮説であり、これに基づく治療も開発されている。

### ④その他

PD でレビー小体の蓄積部位と神経細胞死の部位は少し異なるとする報告がある。PD で神経細胞死が多くみられ、特に脆弱性が高い細胞群としてドパミン細胞や青斑核のノルアドレナリン細胞などが挙げられ、これらの細胞の特徴として自律的なペースメーカー発火があるが、これを促進する機構としての L 型カルシウムチャンネルが神経細胞死に関わるとする報告もある。すなわち、このチャンネルにより流入した細胞内カルシウムがミトコンドリア負荷となり、酸化ストレスが増大した結果、細胞死が起きるといふものであり<sup>12)</sup>、ここではレビー小体の形成は二次的なものとして想定されて

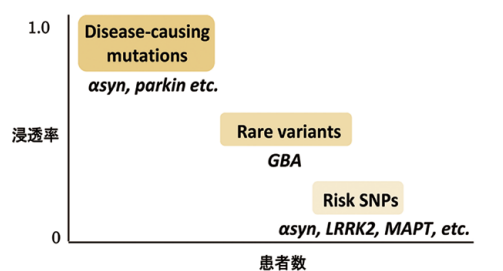


図3. PD の発症に関連する遺伝子として、頻度は稀であるが浸透率が高い家族性PDの原因遺伝子、頻度は高いが浸透率は低いリスクSNPs、その中間型である rare variants がある。

### PDのプリオン仮説

～パーキンソン病は進行の遅い‘プリオン病’である？～

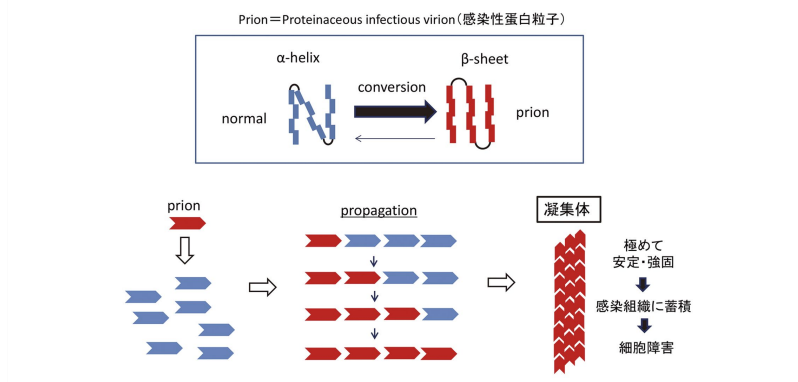


図4.  $\alpha$  helix 構造を持つ正常タンパク質が何らかの刺激により  $\beta$  sheet などの異常な二次構造を持つ異常タンパク質に変化し、次々と周囲の正常タンパク質の構造を異常に変化させながら伝播する。少なくとも *in vitro* やマウスなどのモデル動物の系では、 $\alpha$  syn はこれらの構造変化をとりながら伝播していることが知られている。

いる。実際に *in vitro* でドパミン神経細胞にL型カルシウムチャンネルの阻害薬を添加するとベースメーカーリズムは阻害されないが酸化ストレスを減少させることが報告されている。

### PDの対症療法と疾患修飾療法 (disease modifying therapy ; DMT)

1960年台に抗コリン薬が初めてのPD治療薬として使用されたが、その後減少した脳内のドパミンを補充するL-ドパが開発され、これは現在でもPD治療のゴールドスタンダードである。その他ドパミン受容体刺激薬や、ドパミンの分解酵素(モノアミン酸化酵素など)を抑制する薬剤など様々な抗PD薬が上市されているが、すべて対症療法としての薬剤である。今世紀に入り、ようやくPDの自然経過を変える(進行を抑える)ことのできる薬剤、すなわち疾患修飾療法を目指すいくつかの薬剤が開発されつつある。これらはすべてPDの病態仮説に基づいた治療の試みであり、その点で proof-of-concept therapy ともいえる。

プリオン仮説に基づき、主に  $\alpha$  syn の細胞間伝播部位での捕捉を目指した  $\alpha$  syn の抗体療法(受動免疫療法)、あるいは  $\alpha$  syn のワクチン療法(能動免疫療法)が開発され<sup>13)</sup>、前者は第2相試験中であり<sup>14)</sup>、後者は第1相試験が終了したところである<sup>15)</sup>。GBAをターゲットとしたものとして、GBAの活性低下による脂質の蓄積を防ぐ目的で glucosylceramide synthetase (GCS) の阻害剤が開発され、現在第

二相試験が施行中である<sup>16)</sup>。また、GBAの活性を上昇させるような薬剤も開発段階にある。その他、上述のL型カルシウムチャンネルの阻害剤であり、降圧薬として使用されている israpidine も現在PDの薬剤として第3相試験中である<sup>17)</sup>。これらの薬剤は、すべて発症初期で無治療に近い患者を対象とするものがほとんどであるが、PDの診断時点でレビー小体病理はかなり進展しておりドパミン神経細胞も50%以下に減少しているとされることから、発症超早期あるいは発症前のPD発症高リスク群を同定できるようなバイオマーカーの開発が課題となってきた。

### PDの発症前コホートによる早期 biomarker 開発の試み

近年レム睡眠行動異常症(RBD)が将来的なPD発症の強力なリスク因子であることが分かってきた。その発症率は5年で30-40%、10年で70-80%とされており、RBD患者の追跡によりPD発症前の自然経過や biomarker を特定できる可能性がある。本邦では国立精神・神経医療研究センターの村田美穂らを中心とするグループがRBD患者約100名を追跡する前向きコホート研究を施行中である。これらのコホート群は将来的な疾患修飾療法のよいターゲットになると考えられる。

### おわりに

家族性PD関連遺伝子や rare variants・

SNPsなどのリスク遺伝子の解析、あるいは近年のプリオン仮説に基づいた研究などから病態解明が進んできた。そこから治療薬が開発され、動物モデルでは有効性を示した薬剤は多くあるが、ヒトで進行抑制効果を示すことができた薬剤はない。病態のさらなる解明とともに、今後はより適切な動物モデルの開発と、PD発症超早期あるいは発症前のバイオマーカーの開発が重要な課題となっていくと考えられる。

### 【参考文献】

- 1) Braak, H. *et al.* : *Cell Tissue Res.*, **318**, 121-134 (2004).
- 2) Schapira, A. H. V. *et al.* : *Nat. Rev. Neurosci.*, **18**, 435-450 (2017).
- 3) Singleton, A. B. *et al.* : *Science*, **302**, 841 (2003).
- 4) Ibáñez, P. *et al.* : *Lancet*, **364**, 1169-71 (2004).
- 5) Chartier-Harlin, M. C. *et al.* : *Lancet*, **364**, 1167-9 (2004).
- 6) Satake, W. *et al.* : *Nat. Genet.*, **41**, 1303-7 (2009).
- 7) Simón-Sánchez, J. *et al.* : *Nat. Genet.*, **41**, 1308-12 (2009).
- 8) Sidransky, E. *et al.* : *N. Engl. J. Med.*, **361**, 1651-61 (2009).
- 9) Mitsui, J. *et al.* : *Arch. Neurol.*, **66**, 571-6 (2009).
- 10) Mazzulli, J. R. *et al.* : *Cell*, **146**, 37-52 (2011).
- 11) Luk, K. C. *et al.* : *J. Exp. Med.*, **209**, 975-86 (2012).
- 12) Surmeier, D. J. *et al.* : *Exp. Neurol.*, **298**, 202-209 (2017).
- 13) Lee, J. S. *et al.* : *J. Mov. Disord.*, **9**, 14-9 (2016).
- 14) ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03100149.
- 15) ClinicalTrials.gov Identifier : NCT01568099.
- 16) ClinicalTrials.gov Identifier : NCT02906020.
- 17) ClinicalTrials.gov Identifier : NCT02168842.

今回は、「パーキンソン病 (2)  $\alpha$  シヌクレイン」の予定です。

## パーキンソン病研究関連試薬

当社では、パーキンソン病研究関連試薬を取り扱っています。詳しくは、当社HPをご覧ください。

- 抗りん酸化 $\alpha$ -シヌクレイン抗体 (pSyn#64) : <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/psyn/index.htm>
- 標識抗りん酸化 $\alpha$ -シヌクレイン抗体 (pSyn#64) : [http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/psyn\\_synuclein/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/psyn_synuclein/index.htm)
- 組換え $\alpha$ -シヌクレイン : <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/synuclein/index.htm>
- パーキン抗体 : [http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/AntiParkinMonoclonal\\_Pax6/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/AntiParkinMonoclonal_Pax6/index.htm)
- ボディアン染色用プロテイン銀 : [http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/Silver\\_Protein/index.htm](http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/Silver_Protein/index.htm)

Wako



第1回 エクソソームとは？

金沢大学医学系免疫学 華山 力成

近年、細胞外小胞 (EV) の研究が加速的に進展している。2011 年には年間 200 報程度の論文数であったが、2016 年には 1000 報以上の論文が発表され、様々な生理機能や病態発症との関連が示唆されている。EV は大きく分けてエンドソーム由来のエクソソームと形質膜由来のマイクロベジクルなどに分類することができるが、現在最も精製に用いられている分画遠心法で両者を厳密に分離するのは困難であり、便宜的に  $10,000 \times g$  で沈降しない EV を small EV (主にエクソソーム) と呼んでいる<sup>1)</sup>。エクソソームは様々な細胞が分泌する小型 (直径 30 ~ 100nm 程度) の膜小胞で、殆どの体液 (血液や尿、髄液など) や細胞培養液中に存在している。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 (ESCRT 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や RNA 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<sup>2)</sup> (図 2)。長年エクソソームは、不要な細胞内容物の放出に関与すると考えら

れていた。しかし近年では、生体内で脂質・蛋白質・RNAなどを運ぶ新たな細胞間情報伝達媒体として注目されており、その生理的または病態生理的機能の解明とともに、これらの機能を用いた臨床応用研究、特に診断や治療、バイオマーカーの開発が急速に展開されている。

現在、エクソソームの研究は、ほぼ全ての研究領域 (免疫、神経、癌、内分泌、循環器など) に跨り進められている。例えば、免疫細胞 (特に樹状細胞) 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 (図 2)、免疫細胞間での抗原情報の交換や、免疫細胞の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<sup>3)</sup> (図 1)。神経系では、神経回路の制御に関連するとともに<sup>4)</sup>、様々な神経変性疾患の原因蛋白質がエクソソームによって細胞外へ放出され他細胞へと伝播される事が明らかとなり、病態の進展に深く関与する可能性が示されている<sup>5)</sup> (図 3)。癌細胞が放出するエクソソームには、血管新生や免疫抑制に関連する分子が多数含まれており、癌細胞の成長に適した微小環境を構築し、癌の進展を促進するのに寄与していると考えられている<sup>6)</sup> (図 2)。また、癌細胞由来エクソソーム上の接着分子の発現様式により、どの臓器へと癌が転移するかが決められていることが明らかになっている<sup>7)</sup>。最

近、脂肪細胞が放出するエクソソームは、肝臓での遺伝子発現を制御することが報告されている<sup>8)</sup>。また、多くのウイルスがエクソソームの産生経路を利用して産生される一方で、細胞に感染した細菌や寄生虫が、エクソソームを介して他細胞に感染している細菌・寄生虫の活動を制御する可能性が示されている<sup>9,10)</sup>。

これらの機能の殆どが、エクソソームに存在する分泌細胞由来の分子によって引き起こされる。中でも、エクソソーム内に分泌細胞由来の mRNA や miRNA が存在することが判明してからは、エクソソームが細胞間における遺伝子発現情報の水平伝播に関与する可能性が非常に注目されている<sup>11)</sup>。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。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。1つのエクソソームに含まれる蛋白質は数万種類、mRNA、miRNA は数千種類以上あると想定されているが、その構成は由来細胞ごとで異なるとともに、その細胞の状態によっても変化する。また、エクソソームにおけるこれらの構成は、分泌細胞内での構成と異なっており、エクソソームに特異的な蛋白質

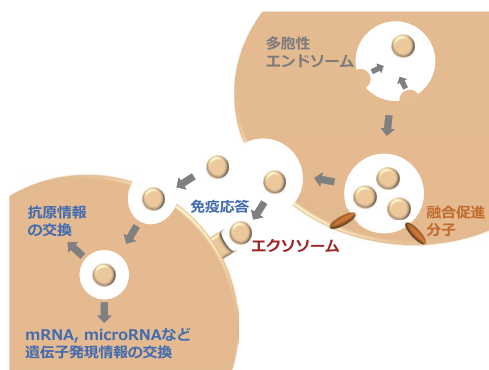


図 1. エクソソームによる細胞間情報伝達機構

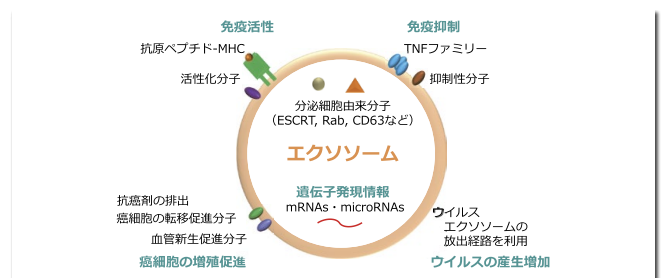


図 2. エクソソームに含まれる分子の例



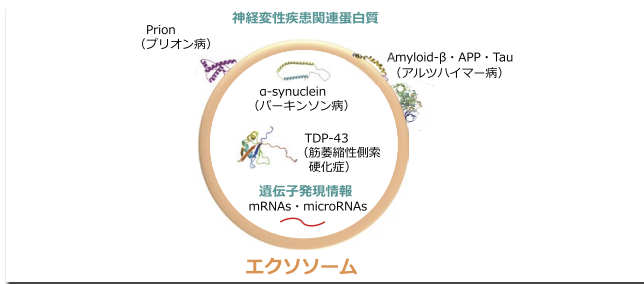


図3. 神経系エクソソームに含まれる分子の例

や mRNA/miRNA が選択的にエクソソームへと積載される機構が存在すると考えられる。このような特異性から、エクソソーム内の RNA はバイオマーカーとして、更に治療開発の標的として注目されている。一方、エクソソーム中の mRNA は標的細胞に取り込まれるとその細胞内で機能性蛋白質の発現を引き起こしうるが、エクソソーム中の miRNA の多くが、機能性 miRNA ではなく前駆体であるため、それが、どのような生理的意義をもつかが研究されている。このように、エクソソームには多種多様な蛋白質や RNA、脂質が含まれているため、細胞ごとに分類し、データベース化 (ExoCarta) することが進められている。更に、プロテオミクスやトランスクリプトミクス、システムバイオロジーを駆使した大規模解析が世界各地で個別に行われているが、解析法の共通化を目指した解析ツールとして FunRich の EV plugin が公開されている。今後、エクソソーム研究を推進するにあたっては、様々な分野の研究者が情報を共有することが必須である。

### エクソソームを用いた治療法や診断法の開発

エクソソームの機能が明らかになるにつれ、近年ではその機能を応用した治療法の開発が行われている。例えば、血中の線維細胞 (間葉系前駆細胞の一種) から放出されたエクソソームは、角化細胞の遊走と増殖、血管新生を促進することで創傷治癒を促進する。

この過程でエクソソーム内の血管新生促進性 miRNA や抗炎症性 miRNA、コラーゲン沈着促進性 miRNA などが関与すると報告されている<sup>12)</sup>。また、癌患者の樹状細胞から放出されたエクソソームには、様々な癌細胞由来の蛋白質が含まれており、癌細胞特異的な細胞傷害性 T 細胞の強い活性化を引き起こす。この機構を用いた抗腫瘍免疫療法の開発が初期臨床研究の段階にある<sup>13)</sup>。一方、病態発症に関与するエクソソームの機能を抑制する試みもなされている。例えば、関節リウマチ患者の滑膜線維芽細胞から放出されるエクソソームには、細胞死を誘導する TNF- $\alpha$  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<sup>14)</sup>。また上述の通り、癌細胞由来エクソソームには癌進展関連分子、神経細胞由来エクソソームには神経変性疾患関連分子が含まれている為、これらのエクソソームを阻害または除去することにより、病態の発症を抑制できる可能性がある。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期待される。さらに、エクソソームを用いて、siRNA や抗癌剤などの薬剤を目的の細胞に運ぶ試みがなされている。エクソソーム膜表面には様々な細胞接着分子が発現しており、その様式によってエクソソームがどの細胞へと運ばれるかが明らかになりつつある為、この特性を応用した新規 DDS の開発が期待されている<sup>15)</sup>。

エクソソームは体液中で非常に安定

であるとともに、小胞内に含まれる蛋白質や RNA はエクソソームの脂質二重膜に守られており分解されない。また、採取後長期間保存された体液中においてもエクソソームは比較的安定である為、エクソソームは臨床検査における新たな疾患バイオマーカーとして有望視されている。様々な疾患との相関が調べられているが、特に血中に放出された癌細胞由来エクソソームは、健常細胞由来エクソソームと構成分子の違いが注目されており、癌の早期診断のツールとして癌進展との相関関係が調べられている<sup>16)</sup>。更に、尿中のエクソソームは腎臓や前立腺、膀胱疾患の新たな診断マーカーとして、髄液中のエクソソームは脳内の腫瘍や神経変性疾患の新たなマーカーとして期待されている。

### エクソソーム研究の課題と今後

エクソソームの役割について既に数多くの研究が報告されているが、これらの現象の根拠となる実験では、体液や培養細胞上清などから精製し、高度に濃縮されたエクソソームが用いられているため、生体内の本来の性状を反映していない可能性がある。従って、このような現象が生体内で本当に起きているのかは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。更には、生体内におけるエクソソームの動態 (どのエクソソームがどこへ行くのか) も今後の研究開発において取り組むべき重要な課題である。

また、これまでエクソソームを精製する方法として、超遠心法や PEG 沈殿法を利用した各種市販キット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のかは慎重な解析を要する。更に、超遠心法は操作が煩雑である為、回収量が不安定で定量的な解析が行えない上に、高額な超遠心機を必要とし多検体の解析が行えないなどの問題点が存在する。このような状況では、エクソソームの研究を進めるのは困難であり、エクソソームを簡易に高純度で精製する技術の開発が早急に求められている。そこで我々は、マクロファージに発現するエクソソームの受容体 Tim4 に着目し、Tim4 の細胞外領域と磁気ビーズとを結合させた「Tim4 磁気ビーズ」を作製した<sup>17)</sup>。Tim4 はエクソソーム膜表面のリン脂質ホスファチジルセリンとカルシウムイオン依存的に結合することから、キレート剤である EDTA を含む溶出バッファーを用いることで遊離させ、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る。実際、Tim4 アフィニティー法を用いて、ヒト白血病細胞から放出されたエクソソームを精製し、その純度を超遠心法や PEG 沈殿法により精製したエクソソームと比較したところ、Tim4 アフィニティー法では他の方法に比べ 10 ~ 100 倍以上にエクソソーム特異的な蛋白質が強く検出されるとともに、エクソソーム以外の夾雑物がほとんど混入しておらず、高純度なエクソソームを再現性よく回収できることが明らかとなった。その結果、これまで同定することができなかったエクソソーム上の蛋白質や RNA を数多く同定することが可能となった。更に、Tim4 のエクソソームへの強い結合能を応用し、エクソソームを ELISA や FACS で高感度に検出・定量することが可能となった。また、マイクロベジクルは従来、分画遠心法で粗精製する

ことしかできなかつたが、Tim4 アフィニティー法を用いることで高純度なマイクロベジクルの精製も可能になった。今後この技術の有用性が世界中で評価され、エクソソームやマイクロベジクル本来の生理機能の解明に大きく貢献することを期待している。

エクソソームの検出や単離の難しさ、更には種々の分類方法があるため、どのような方法により精製した細胞外小胞をエクソソームと呼ぶのが研究者間で統一されておらず、実験データの解釈や再現性の確認にしている。近年、国際細胞外小胞学会が設立され、世界的な研究者コミュニティが形成されつつあり、国際基準の MISEV ガイドラインが提案されているので、新たに EV の研究を行おうと考えている研究者は是非一読頂きたい<sup>18,19)</sup>。また、このような混乱を回避する方法の1つとして、各論文における実験条件を記録する EV-TRACK knowledge database が設立されている<sup>20)</sup>。一方、EV 研究が世界的に注目されるにつれ、各国で大型研究プロジェクトが開始されている。既に米国では NIH による戦略的大型プロジェクト (Extracellular RNA Communication) が開始されており、Gordon Conference や Keystone Symposia といった国際的に権威のある会議においても 2016 年より分科会が発足している。欧州の医薬品研究開発官民パートナーシップ「革新的医薬品イニシアチブ (IMI)」の支援を受け進められている CANCER-ID プロジェクトでは、EV を含めた研究が既に実施されている。日本においても、2017 年の文部科学省の研究開発戦略目標の1つとして EV 研究が選定され、今後研究の加速が期待されている。何れにせよ、今後の EV 研究の発展には、その基盤と

なる確固たる研究手法や技術の開発が必須であり、Tim4 アフィニティー法がその1つとなることに期待している。

## 【参考文献】

- 1) Kowal, J. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **113** (8), E968-977 (2016).
- 2) Colombo, M., Raposo, G. and Thery, C. : *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **30**, 255-289 (2014).
- 3) Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G. and Thery, C. : *Traffic*, **12** (12), 1659-1668 (2011).
- 4) Bahrini, I., Song, J. H., Diez, D. and Hanayama, R. : *Sci. Rep.*, **5**, 7989 (2015).
- 5) Kramer-Albers, E. M. and Hill, A. F. : *Curr. Opin. Neurobiol.*, **39**, 101-107 (2016).
- 6) Tkach, M. and Thery, C. : *Cell*, **164** (6), 1226-1232 (2016).
- 7) Hoshino, A. et al. : *Nature*, **527** (7578), 329-335 (2015).
- 8) Thomou, T. et al. : *Nature*, **542** (7642), 450-455 (2017).
- 9) Izquierdo-Useros, N., Puertas, M. C., Borrás, F. E., Blanco, J. and Martínez-Picado, J. : *Cell Microbiol.*, **13** (1), 10-17 (2011).
- 10) Regev-Rudzki, N. et al. : *Cell*, **153** (5), 1120-1133 (2013).
- 11) Valadi, H. et al. : *Nat. Cell Biol.*, **9** (6), 654-659 (2007).
- 12) Geiger, A., Walker, A. and Nissen, E. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **467** (2), 303-309 (2015).
- 13) Bell, B. M., Kirk, I. D., Hiltbrunner, S., Gabrielsson, S. and Bultema, J. J. : *Nanomedicine*, **12** (1), 163-169 (2016).
- 14) Zhang, H. G. et al. : *J. Immunol.*, **176** (12), 7385-7393 (2006).
- 15) Batrakova, E. V. and Kim, M. S. : *J. Control. Release*, **219**, 396-405 (2015).
- 16) Thind, A. and Wilson, C. : *J. Extracell. Vesicles*, **5**, 31292 (2016).
- 17) Nakai, W. et al. : *Sci. Rep.*, **6**, 33935 (2016).
- 18) Witwer, K. W. et al. : *J. Extracell. Vesicles*, **2** (2013).
- 19) Lotvall, J. et al. : *J. Extracell. Vesicles*, **3**, 26913 (2014).
- 20) EV-TRACK Consortium, Van Deun, J. et al. : *Nat. Methods*, **14** (3), 228-232 (2017).

## シリーズ開始にあたって

この度、多くの先生方のご協力により、「エクソソームと生命現象」の連載を開始しました。この場を借りて感謝申し上げます。

本シリーズでは、エクソソームと関連するさまざまな研究分野でご活躍されている先生方に最新の研究内容をご紹介します。是非、ご期待下さい。

当社では、エクソソーム研究関連試薬を多数取り扱っています。詳しくは、当社 HP をご覧下さい。

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



### 第 4 話 日本及び海外の動向のご紹介

本シリーズも今回で最終話となりました。最終話となった今回は、qNMR を取り巻く日本及び海外の動向をご紹介します。

第 1 話 (qNMR 高精度化のはじまり) においてもご紹介させて頂きましたが、精確な内標準法としての qNMR は日本の食品添加物公定書において世界で初めて公定法化されました。食品添加物公定書では、既に 3 種の定量対象標品の純度決定に、日本薬局方では 8 種の定量指標成分標品の純度決定に採用されています。またラウンドロビン試験を含めた検討の結果<sup>1)</sup>、2018 年 1 月には日本工業規格 (JIS) の通則に定量核磁気共鳴分光法通則 (qNMR 通則) として採用されています。なお余談ですが、JIS においては核磁気共鳴分光法 (すなわち NMR) の通則は未だ制定されておらず、定量法としての NMR (すなわち qNMR) が先に制定されたこととなります。qNMR を取り巻く動向も日本が最もエキサイティングであることは間違いありません。また日本国内のみならず米国・欧州をはじめとした海外においても、qNMR の標準化・公定法化に関する取り組みが開始されており、後述する「qNMR summit」を中心に活発に検討が進められています。以下 qNMR に関する動向を中心にそのホットな話題をご紹介します。

近年、qNMR に関する論文、学術誌、出版物などの数が増加しています。Google 社が提供する Google Scholar (グーグル・スカラー) を使って「qNMR」の語句で検索し、年ごとの論文などの数の変化を調査したところ、2005 年頃を境に急激にその数が増加し、その注目度が高まっていることが分かります<sup>2)</sup>。

また、qNMR の普及や標準化を目的としたコミュニティが世界各国で設立され活発な活動が行われ始めています。

日本では、2012 年に日本の国家計量機関 (National Metrology Institute, NMI) である産業技術総合研究所計量総合標準センター (National Metrology Institute of Japan, NMIJ) (昔の工業技術院計量研究所が母体となっ

ています) が定量 NMR クラブを発足し、NMR を利用した有機化合物の定量分析を汎用的かつ信頼性の高い技術として普及させることを目的に活動を行っています<sup>3)</sup>。例年 12 月に多くの一般参加者を含めた会合を開催し qNMR に関連する講演が行われ、日本における qNMR の普及を積極的に推進しています。

一方、米国においては、これまで NMR 関連学会と言えばアカデミックな ENC (Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference) が思い浮かべられましたが (参加者はほぼ大学関係者で占められています)、ここ数年これまでの NMR 関連学会とは一線を画す新たな学会 PANIC (Practical Applications of NMR in Industry Conference) が開催され話題を集めています。本学会は、その学会名からも分かるように産業界の研究者を中心に実用的な NMR 関連の講演が行われ、例年、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration ; FDA)、米国標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology, NIST) などの国立機関やデュポン、ファイザー、バクスターなどの民間企業から参加があります。また qNMR 関連の発表が多い学会としても知られており、筆者がはじめて参加した 2015 年の PANIC では、発表の 4 割以上が qNMR に関連した発表であったことから大きな衝撃を受けたことを覚えています。2017 年には当社と日本電子 (株) が共同で qNMR ランチョンセミナーを開催し 200 名を超える参加者が集まりました。なお学会に付随する形で NMR Validation Workshop も合わせて開催されており、NMR 技術全体の標準化の検討が進められています。この Workshop の参加者が中心となって、NMR に関する Wiki page のウェブサイト作成が検討されており、米国のみならず国際的な NMR 技術の標準化への寄与が期待されています。

欧州においても、qNMR の普及・発展を目的とした活動は開始されており、欧州試験所協力機構 (EUROLAB) が、qNMR を含めた NMR のバリデーションガイドライン (Guide to NMR Method Development and Validation)

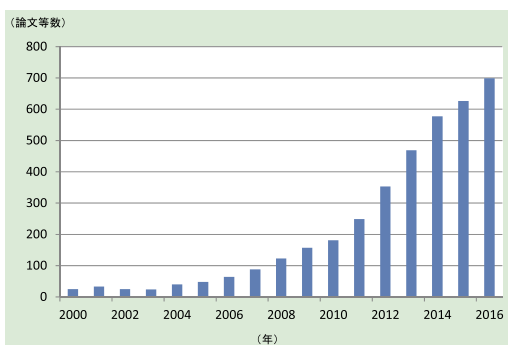


Fig. 1. 「qNMR」を Google Scholar で検索した結果<sup>2)</sup>

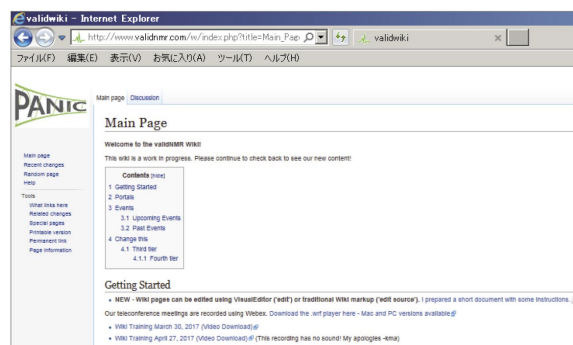


Fig. 2. NMR Validation Wiki page ウェブサイト<sup>4)</sup>





Fig. 3. Guide to NMR Method Development and Validation 表紙<sup>5)</sup>

をウェブサイトで公開しています。EUROLABは、欧州における試験所と校正機関の任意協力機構であり、オプザーバーなどのメンバーを含め34の公的及び民間試験所・校正機関から構成されています。EUROLABが公開するバリデーションガイドラインは、現在Part 1 (2014, Identification and Quantification)とPart 2 (2016, Multivariate Data Analysis)が公開されており、Part 1においてqNMRに関するガイドラインが紹介されています<sup>5)</sup>。その内容は基本的なものでありますが、qNMRを行う上で重要な情報が得られることから、欧州のみならず世界各国で活用されています。とりわけデータ解析時のベースラインコレクションについて注意を払う必要がある旨の記載は筆者も同感であり、qNMR測定を行う上で参考にさせて頂いています。みなさまもぜひ一読しSOPなどの作成にご活用頂ければと思います。

また昨今ではqNMRに特化した国際会議であるqNMR summitが世界各国で開催されています。qNMR summitはNMRによる定量分析技術の向上と幅広い分野への応用を目指し設立されました。2016年10月に米国薬局方(United States Pharmacopeia, USP) (ロックビル市)で第1回、2017年3月にドイツのNMIであるドイツ連邦材料試験研究所(Federal Institute for Materials Research and Testing, BAM) (ベルリン市)で第2回が開催され、第3回は2018年1月に東京で「qNMR summit 2018 in Tokyo」として開催されました。「qNMR summit 2018 in Tokyo」は、経済産業省「平成29年度 戦略的国際標準化加速事業(政府戦略分野に係る国際標準開発活動)」制度支援のもと、qNMR法の国際標準化(ISO)の取り組みの一環として開催されました。ISO化の状況報告、世界のNMR規格を知るための国際フォーラム、医薬品分野のqNMRの規格、活用事例をテーマにしたシンポジウム、さらにはUSP主催の「USP qNMR Symposium」が開催され、国立医薬品食品衛生研究所、イリノイ大学シカゴ校、USP、欧州薬局方を管理するEDQM(European Directorate for the Quality of Medicines)、国際度量衡局



Fig. 4. qNMR summit 2018 Würzburg, Germany 案内<sup>6)</sup>

(Bureau international des poids et mesures, BIPM)をはじめ国内外の専門家の方々が講演し活発な質疑応答が行われました。qNMR summitは、2018年10月にドイツ・ヴェルツブルク市で第4回が開催されることが決定しており、今後もqNMRの発展や普及に寄与することが期待されています。

qNMRは、Forensic science(犯罪捜査学)を担当する警察関係の研究機関にも広がりを見せています。その理由のひとつに危険ドラッグの台頭があります。危険ドラッグの多くはカンナビノイド(大麻草)の分子構造の一部を人工的に改変した合成カンナビノイド類です。通常、これら合成カンナビノイド類の精密な分析は、標準品を立ててこれを基準に分析しますが、次々に現れるこれら危険ドラッグに対応する標準品の整備が追いついていないのが現状です。これを打破する技術として、彼らはqNMRに着目し定量分析への適用を開始しています。すなわちqNMRは分析対象化合物と同じ種類の化合物を標準品とせず(まったく違った構造の化合物を基準に)、絶対定量することが可能な手法ですので、実際に、米国麻薬取締局(Drug Enforcement Administration, DEA)、ドイツ連邦刑事庁(Bundeskriminalamt, BKA)、スウェーデン国立科学鑑定センター(Swedish National Forensic Centre, NFC)などの機関から、qNMRの危険ドラッグ分析への適用が報告されており、今後も犯罪捜査学へ一層活用されることが予想されます。

qNMRの普及・発展を目的とした活動はBIPMと産業技術総合研究所の共同研究においても推進されています。BIPMは1875年にメートル条約のもとにパリに設立され、計量標準の国際的同等性の確保とその推進をミッションとする政府間組織です。BIPMと日本の国家計量機関の機能を有する産業技術総合研究所は、2014年より革新的トレーサビリティ体系の普及・発展を目指す目的から、qNMRに関する共同研究を行っており、その研究成果は、その目的の達成のため、qNMR Internal Standard Reference

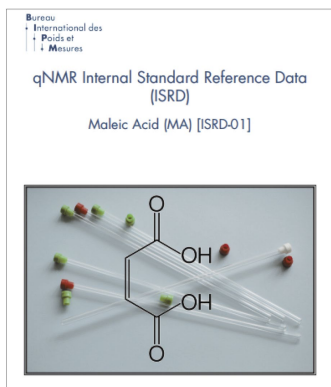


Fig. 5. BIPM が提供する qNMR Internal Standard Reference Data (ISRD) Maleic Acid 表紙<sup>7)</sup>

Data (ISRD) として BIPM のウェブサイトにて一般公開されています<sup>7)</sup>。ISRD においては、qNMR 内標法に用いる内部基準物質に関する有益な情報が無償で得られます。また ISRD の最大の特徴としては、論文などと違いあらたな情報が継続的にアップデートされることにあります。今後も複数の化合物について ISRD が提供される予定になっており、qNMR の普及・発展が増々加速することが予想されます。

最後に、日本においては、測定条件など qNMR の手法に関して概ねコンセンサスが得られ始めており、あらたな公定法案の策定など次の段階へと進みつつあります。当社を含め約 10 年前から始まった qNMR に対する取り組みですが、最初は全く訳が分からず混沌とした状況にあったことが思い浮かべられます。その 10 年前の状況は今の米国や欧州に当てはまり、まさに米国や欧州の現況は筆者の所

感として混沌としていますが、qNMR の国際標準化や世界各国の公定法への適用と相まって今後 5 年～10 年程度で概ね日本を含め国際的なコンセンサスが得られるのではないかと期待しています。

qNMR は効率的に信頼性の高い定量値が得られる手法ですが、測定系によっては条件設定が適切に行われず誤った結果を導く可能性もあり、我々は、それを周知した上でその利点を有効に活用する必要があります。qNMR が今後も計量標準分野、製薬分野、工業化学分野などへ広がり、分析値の信頼性担保に継続的に寄与することを望んで結びの言葉とさせていただきます。

#### 【参考文献】

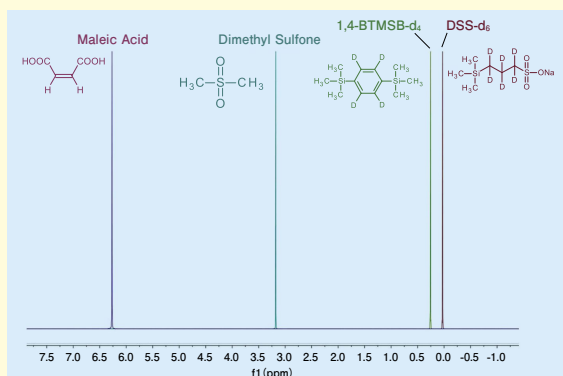
- 1) Miura, T., Sugimoto, N., Watanabe, R., Suematsu, T., Takayanagi, Y., Ito, Y., Saito, N., Sawa, R., Kato, T., Fujimine, Y., Koike, R., Ohfuku, Y., Yamada, Y., Utsumi, H. and Suzuki, T.: *YAKUGAKU ZASSHI*, **137** (12), 1543-1553 (2017).
- 2) Inspired by Dr. Naoki Sugimoto at National Institute of Health and Science.
- 3) NMIJ qNMR club website.  
<https://www.nmij.jp/~nmijclub/qNMR/qNMR.html>
- 4) NMR Validation website, Acknowledgement to: Dr. Kimberly Colson at Bruker Biospin.  
<http://www.validnmr.com/>
- 5) EUROLAB website, Acknowledgement to: Torsten Shoenberger at BKA.  
<http://www.eurolab.org/publications.aspx?FileTypeId=7>
- 6) qNMR summit 2018 Würzburg, Germany website, Acknowledgement to: Dr. Bernd Diehl at Spectral service.  
<https://www.uni-wuerzburg.de/index.php?id=203750>
- 7) BIPM qNMR Internal Standard Reference Data (ISRD) website, Acknowledgement to: Drs. Robert I. WIELGOSZ and Steven Westwood at BIPM.  
<https://www.bipm.org/en/bipm/chemistry/organic-analysis/qnmr/>

## qNMR用認証標準物質 (TraceSure<sup>®</sup>)

Wako

定量用の基準物質を選択する上では測定対象物質の信号が観測されない領域に化学シフトを持つ化合物であることや、分析に用いる溶媒種に対して良好な溶解性がある化合物を選択する必要があります。当社では下記のような化学シフト及び溶解性を持つ SI トレサビリティが確保された信頼性の高い認証標準物質をご用意しています。

### ■ <sup>1</sup>H NMR スペクトル



### ■ 溶解性 (各 1,000 ppm 溶解時)

|                                 | マレイン酸 | ジメチルスルホン | 1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> | DSS-d <sub>6</sub> |
|---------------------------------|-------|----------|--------------------------|--------------------|
| Acetone-d <sub>6</sub>          | ○     | ○        | ○                        | ×                  |
| CDCl <sub>3</sub>               | ×     | ○        | ○                        | ×                  |
| D <sub>2</sub> O                | ○     | ○        | ×                        | ○                  |
| DMSO-d <sub>6</sub>             | ○     | ○        | △                        | ○                  |
| CD <sub>3</sub> OD              | ○     | ○        | ○                        | ○                  |
| CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | ×     | ○        | ○                        | ×                  |

製品一覧・詳細は、当社 HP をご覧ください。

製品情報：<https://labchem.wako-chem.co.jp/analysis/nmr/qnmr/>

qNMR 専用サイト (英語)：<http://www.wako-chem.co.jp/english/labchem/product/analytical/qNMR/index.htm>

## 第2回 オリゴヌクレオチド合成における保護・脱保護

核酸の人工合成は、生化学における重要技術であり、これまで多くの工夫が積み重ねられてきた<sup>1)</sup>。核酸の効率のよい合成を目指すには、官能基の適切な保護と脱保護が不可欠となる。これまでの核酸合成研究の歴史は、保護基の開発の歴史と言っても過言ではなく、今も保護基の選択が合成の可否を大きく左右することは変わっていない。そこで今回は、核酸の保護基について述べてゆきたい。

### 核酸合成の戦略

ペプチド・糖鎖・核酸という3種の生体高分子の構造は、互いに全く異なっている。ただしその人工合成の基本戦略には共通する部分が多く、次のようにまとめられる。

- (1) 適切に保護された単量体を用意する
- (2) 反応点を脱保護する
- (3) 次の単量体を結合させる
- (4) (2) および (3) のステップを、必要な数だけ繰り返す
- (5) 全体を脱保護する

多様な官能基を側鎖に持つペプチドや、複雑な立体構造を持ち、多数のヒドロキシ基を区別して保護しなければならない糖鎖に比べれば、核酸の保護はかなり単純といえる。とはいえ、現在よく用いられる戦略にたどり着くまでには、多くの努力が払われている。

核酸合成において、保護すべき官能基は核酸塩基のアミノ基と、糖部分のヒドロキシ基である。両者の脱離条件はオルソゴナル——すなわち、一方の脱離条件でもう一方は安定であり、その逆も同様でなければならない。以下に、よく用いられる合成法における保護基について述べてゆく。

### 核酸塩基の保護基

アデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C) のアミノ基は、そのままでは核酸鎖延長反応の際に望まぬ副反応を起こすため、保護しておく必要がある。チミン (T)・ウラシル (U) は反応性の官能基を持たないため、保護の必要はない。

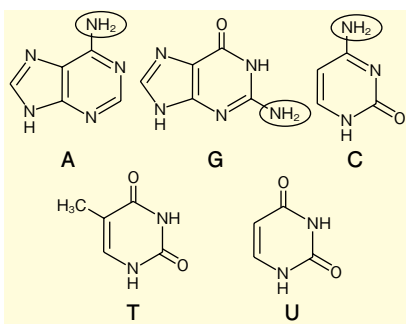


図1. 5種の核酸塩基の構造  
○囲みが、保護すべきアミノ基

これらアミノ基の保護基としてよく用いられるのは、ベンゾイル基 (Bz) やアセチル基 (Ac)、イソブチリル基などのアシル基である。中でも、ベンゾイル基は常用される。これらは酸処理や塩基性加水分解条件に対してかなり安定であり、ヌクレオチド (またはデオキシヌクレオチド、以下同様) 鎖延長反応においても切断や副反応を起こさない。

近年では、保護された各種ヌクレオシド類が市販されているため、こちらを使用することが普通である。ただし、特殊な核酸を合成したい場合などには、保護ヌクレオシドを自製する必要がある。

保護基の導入には、2段階反応がよく用いられる。すなわち、保護したいヌクレオシドに対して塩基存在下で過剰量の塩化アシルを加え、核酸塩基のアミノ基と、糖部分のヒドロキシ基を一挙にアシル化する。その後、アルカリ水溶液でエステル部分を切断して、塩基のアミノ基のみがアシル化された誘導体を得る。

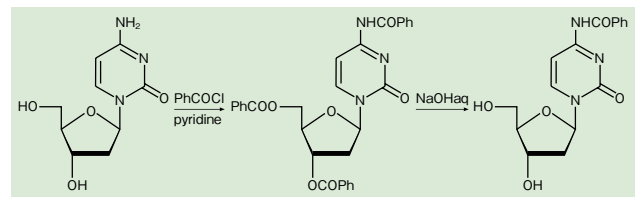


図2. アミノ基保護の一例

また、安息香酸ペンタフルオロフェニルをシチジンに作用させることで、一段階で核酸塩基のみをベンゾイル化する別法もある<sup>2)</sup>。

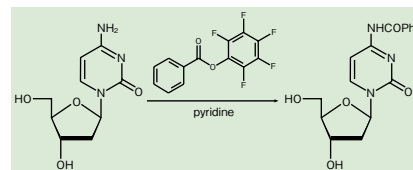


図3. 活性エステルを用いたベンゾイル化

これらアシル基は、合成の最終段階でまとめて脱保護される。多くの場合、50℃の濃アンモニア水にて5時間程度処理することで、アシル基は切断される。ただし、イソブチリル基で保護されたグアニンのアミノ基の場合などでは、この条件にかなり抵抗する。この場合は保護基として、アンモニア水処理によってより速く切断されるジメチルホルムアミジル基 (dmf) を用いることがある<sup>3)</sup>。導入は、ジメチルホルムアミド (DMF) 中、過剰量のジメチルホルムアミドジエチルアセタールを加えて室温で撹拌することで行う。

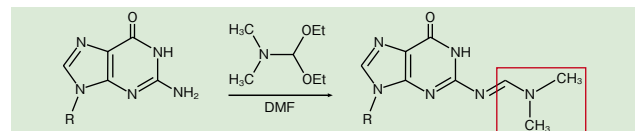


図4. グアニンの dmf 基による保護

それでも脱保護が難しいことが予想される場合には、「ウルトラマイルド保護基」と呼ばれる、アセチル基 (Ac)、フェノキシアセチル基 (Pac)、4-イソブチルフェノキシアセチル基 (iPrPac) などが用いられる。導入の手順は、先のアシル化と同様である。これらは、33%アンモニア水と40%メチルアミン水溶液の混合溶液により、室温で脱保護可能である<sup>4)</sup>。ただしウルトラマイルド保護基で保護された化合物は、溶液状態で長期保存すると徐々に分解するため注意が必要である。



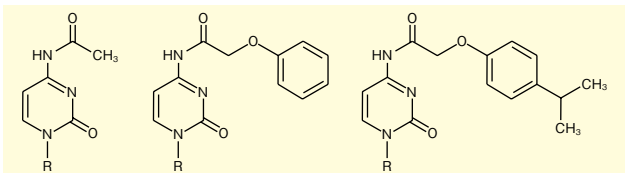


図5. ウルトラマイルド保護基 (左からアセチル基、フェノキシアセチル基、4-イソプロピルフェノキシアセチル基)

### 糖部分の保護基

DNA のデオキシリボースは3'位と5'位の2ヶ所、RNA のリボースは2'位、3'位と5'位の3ヶ所にヒドロキシ基を持つ。ただし、通常の合成法では3'位は反応点となるため、保護は行われない。

5'位ヒドロキシ基の保護には、多くの場合4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル基 (通称4,4'-ジメトキシトリチル基、DMTr) が用いられる。2つのメトキシ基によってトリチルカチオンが安定化されているため、弱酸処理によって容易に切断できる。また極めてかさ高いため、一級ヒドロキシ基である5'位のみを選択的に保護できる。

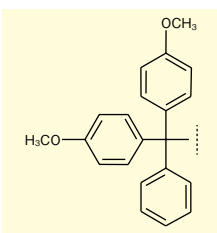


図6. 4,4'-ジメトキシトリチル基(DMTr)

DMTr 基の導入は、アミノ基が保護されたヌクレオシドに対し、塩基の存在下で塩化4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル (DMTr-Cl) を作用させることで行える。二級の2'位及び3'位ヒドロキシ基とは区別し、5'位ヒドロキシ基のみを保護できる。

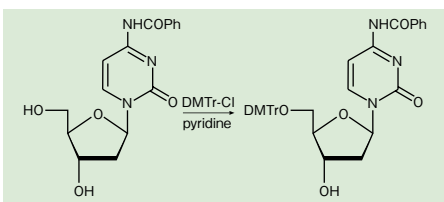


図7. 5'位の保護

DMTr 基の脱保護は、2~3%のジクロロ酢酸またはトリクロロ酢酸の、ジクロロメタン溶液で数分処理することで完了す

る。切断によって生ずるジメトキシトリチル基のカチオンがオレンジ色に発色するため、反応の進行を肉眼で確認できる。

RNA 合成を目的とする場合、さらに2'位ヒドロキシ基を保護しなければならない。この目的には、*tert*-ブチルジメチルシリル基 (TBDMS) がよく用いられる<sup>5)</sup>。核酸塩基のアミノ基及び、5'位のヒドロキシ基が保護されたヌクレオシドに対し、1当量の TBDMS-Cl を作用させて合成する。ただしこの場合、3'位がシリル化されたものも生成するので、この両者をシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどの手段で、慎重に分離する必要がある。

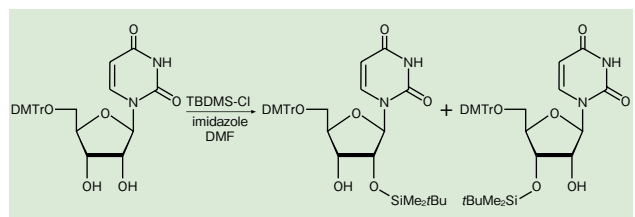


図8. TBDMS 基による保護

また、トリイソプロピルシロキシメチル基 (TOM) も、2'位の保護に用いられる。TBDMS 基と TOM 基はいずれも、フッ化テトラブチルアンモニウム (TBAF) など、フッ化物イオンによる処理で脱保護できる。

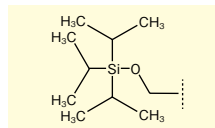


図9. トリイソプロピルシロキシメチル基 (TOM)

次回以降で、ヌクレオチド鎖延長反応の実際を取り上げてゆく。

### 【参考文献】

- 1) 核酸合成全般の総説: a) Reese, C. B.: *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 3851 (2005).  
b) 日本化学会 編: 実験化学講座 第5版16巻「有機化合物の合成IV カルボン酸・アミノ酸・ペプチド」(丸善).
- 2) Igolen, J. and Morin, C.: *J. Org. Chem.*, **45**, 4802 (1980).
- 3) McBride, L. J. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2040 (1986).
- 4) Reddy, M. P. et al.: *Nucleosides Nucleotides*, **16**, 1589 (2006).
- 5) Usman, N. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 7845 (1987).

## 核酸医薬の合成検討に

Wako

### ÄKTA oligopilot用核酸合成試薬

当社では、ホスホアミダイト法に使用する反応補助試薬を販売しています。この度、合成機の ÄKTA oligopilot 用試薬をフルラインアップしました。水分値を保証しているため、低水分条件が求められる核酸の合成に最適です。

詳しくは、24 ページをご覧ください。

## 核酸医薬の合成検討に

### ÄKTA oligopilot 用核酸合成試薬

Wako

核酸を構成するオリゴヌクレオチドの合成は、ホスホロアミダイト法という固相合成の手法を用いるのが一般的です。当社では、ホスホロアミダイト法に使用する反応補助試薬を販売しています。この度、合成機の ÄKTA oligopilot 用試薬をフルラインアップしました。水分値を保証しているため、低水分条件が求められる核酸の合成に最適です。

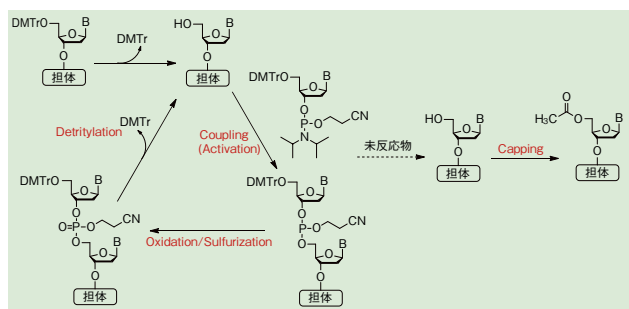
#### 特長

- 反応補助試薬をフルラインアップ
- 高い脱水技術を活かした低水分保証
- 組成やスケールアップのカスタマイズが可能
- 試薬の取り違い防止用、種類別に色分けラベルを採用



ÄKTA oligopilot

#### オリゴヌクレオチドの合成方法



| コード No.   | 品名   | 規格    | 容量 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|--|-------|----|------------|
| 043-34441 | Deblocking Solution [Dichloroacetic Acid-Toluene (3:97)]<br>水分値：200ppm以下                         | 核酸合成用 | 3L | 22,000     |
| 011-19681 | Activator Solution-1 (0.25mol/L 4,5-Dicyanoimidazole, Acetonitrile Solution)<br>水分値：30ppm以下      | 核酸合成用 | 3L | 照会         |
| 011-19701 | Activator Solution-2 (0.45mol/L 1H-Tetrazole, Acetonitrile Solution)<br>水分値：30ppm以下              | 核酸合成用 | 3L | 照会         |
| 013-20011 | Activator Solution-3 (0.25mol/L 5-Benzylthio-1H-tetrazole, Acetonitrile Solution)<br>水分値：30ppm以下 | 核酸合成用 | 3L | 照会         |

| コード No.   | 品名  | 規格    | 容量 | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|-------|----|------------|
| 018-19691 | Activator Solution-4 (0.25mol/L 5-Ethylthio-1H-tetrazole, Acetonitrile Solution)<br>水分値：30ppm以下 | 核酸合成用 | 3L | 照会         |
| 158-03511 | Oxidizing Solution [Iodine Solution (abt. 0.05mol/L)] [Pyridine:Water (9:1)]                    | 核酸合成用 | 3L | 22,000     |
| 031-25391 | Cap A Solution [1-Methylimidazole-Acetonitrile (2:8)]<br>水分値：100ppm以下                           | 核酸合成用 | 3L | 22,000     |
| 034-25381 | Cap B1 Solution [Acetic Anhydride-Acetonitrile (4:6)]   | 核酸合成用 | 3L | 22,000     |
| 030-25361 | Cap B2 Solution [Pyridine-Acetonitrile (4:6)]<br>水分値：100ppm以下                                   | 核酸合成用 | 3L | 25,000     |
| 037-25371 | Cap B2 Solution [2,6-Lutidine-Acetonitrile (6:4)]<br>水分値：100ppm以下                               | 核酸合成用 | 3L | 25,000     |
| 034-25401 | Cap B Solution [Acetic Anhydride-2,6-Lutidine-Acetonitrile (2:3:5)]                             | 核酸合成用 | 3L | 29,000     |

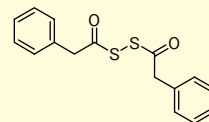
#### 関連商品

##### 硫化試薬

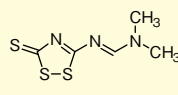
核酸医薬の合成で取り入れられる硫化 (S 化) 反応の試薬を販売しています。



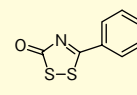
C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>=200.23  
CAS RN® 66304-01-6  
1



C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>=302.41  
CAS RN® 15088-78-5  
2



C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S<sub>3</sub>=205.32  
CAS RN® 1192027-04-5  
3



C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>NOS<sub>2</sub>=195.26  
CAS RN® 7047-10-1  
4

| No. | コード No.   | 品名   | 規格/メーカー          | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----|-----------|--|------------------|-------|------------|
| 1   | 324-72121 | 3H-1,2-Benzodithiol-3-one 1,1-Dioxide<br>【Beaucage試薬】<br>水分値：保証なし                          | 富士フィルム<br>ワコケミカル | 500mg | 10,600     |
| 2   | 351-18171 | Bis (phenylacetyl) Disulfide<br>【PADS】<br>水分値：保証なし   | 富士フィルム<br>ワコケミカル | 5g    | 7,500      |
|     | 359-18172 |  |                  | 25g   | 24,900     |
| 3   | 042-34411 | [(N,N-Dimethylaminomethylidene)amino]-3H-1,2,4-dithiazoline-3-thione【DDTT】<br>水分値：200ppm以下 | 核酸合成用            | 5g    | 18,000     |
|     | 040-34412 |  |                  | 25g   | 63,000     |
| 4   | 166-28251 | 5-Phenyl-3H-1,2,4-dithiazol-3-one  | 核酸合成用            | 5g    | 18,000     |
|     | 164-28252 | 水分値：200ppm以下   |                  | 25g   | 63,000     |

その他の製品は、当社ホームページをご覧ください。

<https://labchem.wako-chem.co.jp/synthesis/nucleic-acid-synthesis/cat/>

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、2018年4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。

## 機能性材料 トリフルオロメタンスルホン酸誘導体

### KTFSM

Wako

有機ふっ素化合物は、電子吸引性を有し、イオン伝導性を示すことから、帯電防止剤や、リチウムイオン二次電池の電解質として利用されます。この度、新たにトリフルオロメタンスルホン酸誘導体をラインアップに追加しました。

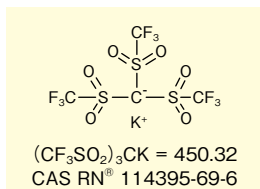
#### 用途

- イオン液体の前駆体
- 帯電防止剤

#### 製品概要

- 水分：0.5% 以下
- 融点 (°C)：225-232 \*

\*文献値



| コードNo.    | 品名  | 規格    | 容量 | 希望納入価格(円) |
|-----------|---|-------|----|-----------|
| 164-28311 | Potassium Tris(trifluoromethanesulfonyl)methide [KTFSM] | 有機合成用 | 5g | 28,000    |

#### 関連商品

| コードNo.    | 品名   | 規格    | 容量   | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|-------|------|-----------|
| 122-06632 | Lithium Bis(fluorosulfonyl)imide [LiFSI]             | 有機合成用 | 25g  | 14,000    |
| 124-06631 | Lithium Bis(fluorosulfonyl)imide [LiFSI]             | 有機合成用 | 100g | 41,000    |
| 129-06642 | Lithium Bis(trifluoromethanesulfonyl)imide [LiTFSI]  | 有機合成用 | 25g  | 6,900     |
| 121-06641 | Lithium Bis(trifluoromethanesulfonyl)imide [LiTFSI]  | 有機合成用 | 100g | 17,500    |
| 167-28002 | Potassium Bis(trifluoromethanesulfonyl)imide [KTFSI] | 有機合成用 | 25g  | 5,900     |
| 169-28001 | Potassium Bis(trifluoromethanesulfonyl)imide [KTFSI] | 有機合成用 | 100g | 18,000    |

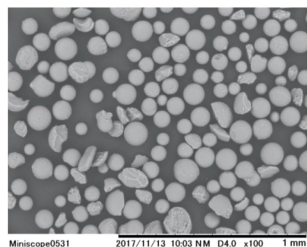
## 球状シリカゲル

### Wakosil® 60

Wako

カラムクロマトグラフ用の球状シリカゲル Wakosil® シリーズに新製品「Wakosil® 60」を追加しました。分取・精製用に最も用いられている、細孔径 6nm の球状シリカゲルです。保持性能が高く、大スケールでの分取精製に適しています。

サンプルをご用意しています。当社営業または代理店までお問合せ下さい。



#### 物性情報

|      |                          |
|------|--------------------------|
| 形状   | 球状                       |
| 細孔径  | 6nm                      |
| 比表面積 | 450-550m <sup>2</sup> /g |
| pH   | 6.2-7.5                  |

| コードNo.    | 品名                                       | 規格 | 容量   | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|----|------|-----------|
| 230-02765 | Wakosil® 60, 64~210μm<br>カラムクロマト<br>グラフ用 |    | 500g | 4,600     |
| 238-02761 |  |    | 2kg  | 13,500    |
| 236-02767 |  |    | 10kg | 38,000    |
| 234-02768 |  |    | 25kg | 照会        |

## 追加品目のお知らせ

### ポジティブリスト関連標準品

Wako

当社では、ポジティブリスト制度の対象となる農薬標準品、動物用医薬品標準品を品揃えしています。

下記品目を新たに発売しました。

#### 農薬標準品

- アセフェート標準品
- (R,R)-ベンチアバリカルブイソプロピル標準品
- (R,S)-ベンチアバリカルブイソプロピル標準品
- (S,S)-ベンチアバリカルブイソプロピル標準品
- クロロトルロン標準品
- ジチオビル標準品
- エクロメゾール標準品
- エスプロカルブ標準品
- フェンピロキシメート標準品
- フルオピラム標準品
- フルオピラム代謝産物 M21 標準品
- モリネート標準品
- ペンディメタリン標準品
- cis-ペルメトリン標準品
- ホサロン標準品

| コードNo.    | 品名                                       | 規格                     | 容量            | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|------------------------|---------------|-----------|
| 015-08954 | Acephate Standard                        | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 9,000     |
| 025-19141 | (R,R)-Benthiavalicarb-isopropyl Standard | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 50mg  | 15,000    |
| 028-19131 | (R,S)-Benthiavalicarb-isopropyl Standard | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 50mg  | 15,000    |
| 021-19121 | (S,S)-Benthiavalicarb-isopropyl Standard | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 50mg  | 15,000    |
| 037-25251 | Chlorotoluron Standard                   | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 13,000    |
| 048-25123 | Dithiopyr Standard                       | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 15,000    |
| 051-03494 | Echlomezol Standard (Etridiazole)        | Res <sup>o</sup> 包     | 残留農薬試験用 100mg | 12,000    |
| 055-05893 | Esprocarb Standard                       | Res <sup>o</sup> 包     | 残留農薬試験用 100mg | 16,000    |
| 063-03293 | Fenpyroximate Standard                   | Res <sup>o</sup> 包 II  | 残留農薬試験用 100mg | 15,000    |
| 060-06721 | Fluopyram Standard                       | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 35,000    |
| 067-06731 | Fluopyram Metabolite M21 Standard        | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 30,000    |
| 130-12163 | Molinate Standard                        | Res <sup>o</sup> 包     | 残留農薬試験用 100mg | 15,000    |
| 168-11903 | Pendimethalin Standard                   | Res <sup>o</sup> 包     | 残留農薬試験用 100mg | 13,000    |
| 168-16523 | cis-Permethrin Standard                  | Res <sup>o</sup>       | 残留農薬試験用 100mg | 10,000    |
| 167-09383 | Phosalone Standard                       | Res <sup>o</sup> 包 III | 残留農薬試験用 100mg | 10,000    |

随時、当社 HP のリストに発売品目を追加・更新していきます。詳細は、当社 HP をご覧下さい。

当社試薬 HP → 分析 → 食品分析 → ポジティブリスト

和光 ポジティブリスト

検索



## 細胞外小胞の吸着をブロック

### EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬

Wako

本品は、独自のポリマー溶液を利用した細胞外小胞の吸着抑制試薬です。細胞外小胞は、サンプルチューブや限外ろ過膜に吸着するため、精製や保存の過程で著しく減少します。本品は、このような細胞外小胞の吸着を強力に抑制することから、各種工程における細胞外小胞の減少を抑制することが可能です。

MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS (コード No. : 299-77603, 293-77601) を用いた細胞外小胞の単離にご使用下さい。

### 特長

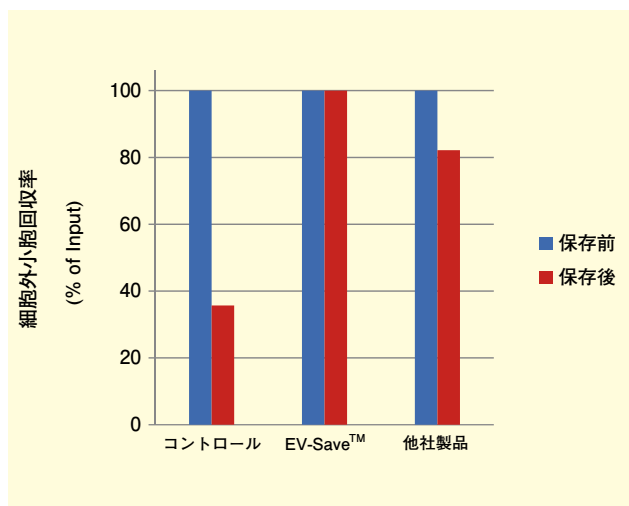
- 細胞外小胞の吸着を強力に抑制
- 低い細胞毒性

### 使用法の概要

培養上清や保存溶液に本品を 1/100 量添加して使用します。

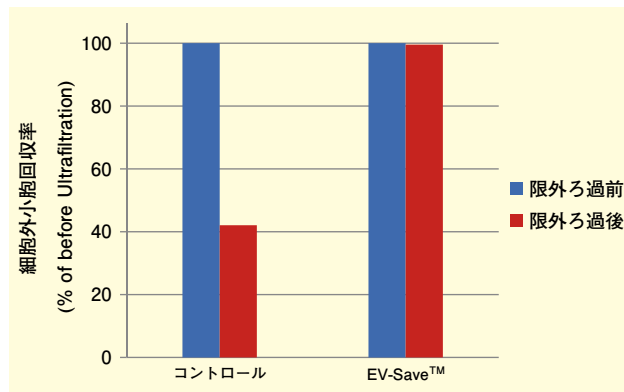
### データ

#### ■ サンプルチューブ内での細胞外小胞吸着防止効果



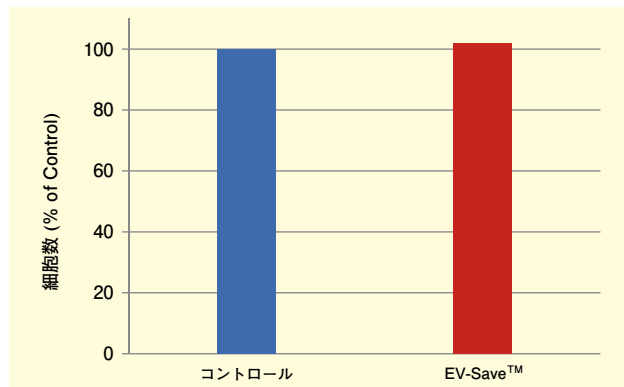
MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS [コード No. 293-77601] により COLO201 細胞の培養上清から精製した細胞外小胞 (3ng/μL) をサンプルチューブ内において 16 時間 4℃条件下で保存した。その後、PS Capture™ エクソソーム ELISA キット (抗マウス IgG POD) [コード No. 297-79201] により溶液中の細胞外小胞量を測定し、保存時における細胞外小胞の回収率を解析した。EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬を保存溶液に添加することにより、細胞外小胞のサンプルチューブへの吸着はほぼ完全に抑制された。

#### ■ 限外ろ過時における細胞外小胞保護効果



hiPS 細胞の培養上清を限外ろ過カラム (Sartorius 社 Vivaspinn20 分画分子量 100K) を用いて 10 倍濃縮した。その後、10 倍希釈した濃縮液を PS Capture™ エクソソーム ELISA キット (抗マウス IgG POD) [コード No. 297-79201] で解析して限外ろ過による濃縮時における細胞外小胞の回収率を検討した。EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬を培養上清に添加することにより、濃縮の過程においてエクソソームが減少しないことが明らかになった。

#### ■ 培養細胞に対する細胞毒性の評価



hiPS 細胞に EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬を 1/100 量添加した TBS 溶液を培養培地の 1/5 量添加して 3 日間培養し、その後の細胞数を測定した。EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬は培養細胞の増殖にほぼ影響しないことを確認した。

| コード No.   | 品名  | 規格     | 容量  | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|--------|-----|------------|
| 058-09261 | EV-Save™ Extracellular Vesicle Blocking Reagent | 遺伝子研究用 | 1mL | 9,800      |

#### 関連商品

| コード No.   | 品名   | 規格     | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----------|--|--------|-------|------------|
| 299-77603 | MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS               | 遺伝子研究用 | 2回用   | 20,000     |
| 293-77601 | MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS               | 遺伝子研究用 | 10回用  | 80,000     |
| 297-79201 | PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD) | 遺伝子研究用 | 96回用  | 58,000     |
| 016-27061 | Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13)              | 免疫化学用  | 20μL  | 9,000      |
| 012-27063 | Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13)              | 免疫化学用  | 100μL | 30,000     |
| 290-35591 | Magnet Stand                                       | —      | 1個    | 60,000     |

☐: 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、2018年4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。

## 高感度抗 CD63 抗体

抗 CD63, モノクローナル抗体(3-13), フルオレセイン結合

Wako

本品は、DNA 免疫法で樹立した CD63 (lysosome-associated membrane glycoprotein : LAMP3) に対するマウスモノクローナル抗体のフルオレセイン標識品です。CD63 は 4 回膜貫通ドメインをもつ膜タンパク質で、細胞外小胞、活性化血小板のマーカータンパク質として使用されています。

### 特長

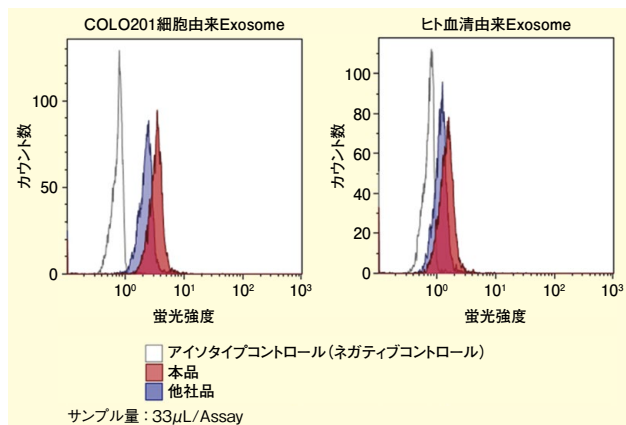
- PS Capture™ エクソソームフローサイトメトリーキットを併用することで、ヒト CD63 陽性細胞外小胞のフローサイトメトリーに使用可能

### 製品概要

- クローン No. : 3-13
- 免疫動物 : マウス
- 抗体サブクラス : IgG1
- 交差性 : ヒト
- 適用 : フローサイトメトリー

### データ

■ COLO201 細胞培養上清及びヒト血清由来エクソソーム表面の CD63 の検出



COLO201 細胞培養上清及びヒト血清中のエクソソームを PS Capture™ エクソソームフローサイトメトリーキット [コード No. 297-79701] によって単離し、本抗体でエクソソームマーカータンパク質を染色した。他社フルオレセイン結合抗 CD63 抗体に比べて、ネガティブコントロールに対する蛍光強度ピークのシフトが大きく、エクソソーム上の CD63 を高感度に検出できることが示された。

| コード No.   | 品名                             | 規格    | 容量    | 希望納入価格(円) |
|-----------|--------------------------------|-------|-------|-----------|
| 018-27641 | Anti CD63, Monoclonal Antibody | 免疫化学用 | 25回用  | 照会        |
| 014-27643 | (3-13), Fluorescein Conjugated |       | 100回用 |           |

### 関連商品

| コード No.   | 品名                                     | 規格     | 容量    | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|--------|-------|-----------|
| 297-79701 | PS Capture™ Exosome Flow Cytometry Kit | 遺伝子研究用 | 300回用 | 30,000    |

## 気道・肺胞前駆細胞のマーカー

抗 CPM, モノクローナル抗体 (WK)

Wako

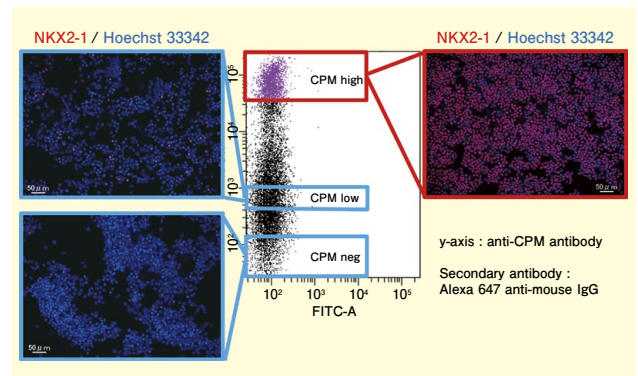
カルボキシペプチダーゼ M (CPM) は、細胞膜表面に発現する酵素であり、ペプチドやタンパク質の C 末端にあるアルギニンやリシンを切断します。

近年の研究により気道や肺胞の前駆細胞、肝前駆細胞のマーカーとして使用できることが報告されています。

### 製品概要

- 組成 : リン酸緩衝液、50w/v% グリセロール及び 0.05w/v% アジ化ナトリウム含有
- 濃度 : 初回実測値 1.0mg/mL
- クローン No. : WK
- サブクラス : マウス IgG2b
- 交差性 : ヒト
- 希釈率 : フローサイトメトリー 1:100~200  
免疫染色 1:100~1,000  
ウエスタンブロット 1:1,000

### 使用例



ヒト iPS 細胞を肺前駆細胞へ分化した。分化した細胞を分散し、新規開発した CPM 抗体で染色し、フローサイトメトリーによりソーティングした。CPM が高発現していた細胞集団は、肺胞上皮細胞や気道上皮細胞への分化誘導に有用であった。

(データご提供 : 京都大学大学院 医学研究科 後藤 慎平 先生)

### 【参考文献】

- 1) Yamamoto, Y. *et al.* : *Nat. Methods*, **14**, 1097 (2017).
- 2) Hawkins, F. *et al.* : *J. Clin. Invest.*, **127**, 2277 (2017).
- 3) Konishi, S. *et al.* : *Stem Cell Reports*, **6**, 18 (2016).
- 4) Kido, T. *et al.* : *Stem Cell Reports*, **5**, 508 (2015).
- 5) Gotoh, S. *et al.* : *Stem Cell Reports*, **3**, 394 (2014).

| コード No.   | 品名                                 | 規格          | 容量          | 希望納入価格(円) |
|-----------|------------------------------------|-------------|-------------|-----------|
| 014-27501 | Anti CPM, Monoclonal Antibody (WK) | フローサイトメトリー用 | 100 $\mu$ L | 50,000    |

## ヒト iPS 細胞の検出に

### 未分化マーカー抗体

Wako

Nanog、Oct3/4、Sox2 は自己複製能の促進と未分化状態の維持に関わる転写因子です。ヒト ES/iPS 細胞において高いレベルで発現しているため、ヒト ES/iPS 細胞の未分化マーカーとして広く使用されています。

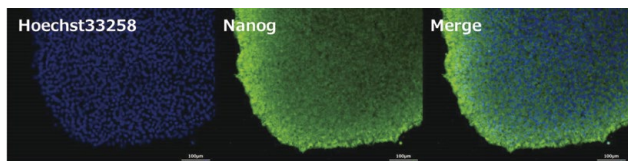
### ■ 抗Nanog, ウサギ

- 抗原：マウス Nanog
- 形状：りん酸緩衝液、50w/v% グリセロール
- 精製：ウサギ血清よりアフィニティ精製
- 希釈率：ウエスタンブロット 1：500  
免疫組織染色 1：200

※ご使用時には適切な濃度をご検討下さい

### データ

#### ■ ヒト iPS 細胞 201B7 株 (希釈率×200)



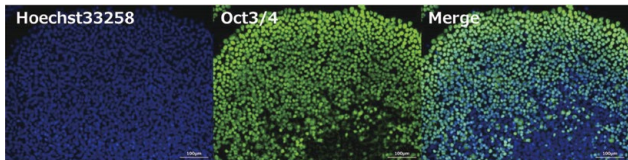
### ■ 抗Oct3/4, ウサギ

- 抗原：マウス Oct3/4 (1-134 aa.)
- 形状：りん酸緩衝液、50w/v% グリセロール
- 精製：ウサギ血清よりアフィニティ精製
- 希釈率：ウエスタンブロット 1：1,000  
免疫組織染色 1：500

※ご使用時には適切な濃度をご検討下さい

### データ

#### ■ ヒト iPS 細胞 201B7 株 (希釈率×500)



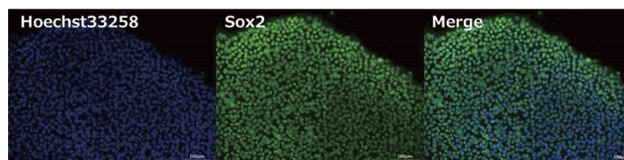
### ■ 抗Sox2, ウサギ

- 抗原：マウス Sox2
- 形状：りん酸緩衝液、50w/v% グリセロール
- 精製：ウサギ血清よりアフィニティ精製
- 希釈率：ウエスタンブロット 1：1,000  
免疫組織染色 1：200 ~ 500

※ご使用時には適切な濃度をご検討下さい

### データ

#### ■ ヒト iPS 細胞 201B7 株 (希釈率×200)



| コード No.       | 品名                      | 規格    | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|---------------|-------------------------|-------|-------|------------|
| NEW 018-27521 | Anti Nanog, Rabbit [E]  | 免疫化学用 | 100μL | 48,000     |
| NEW 015-27531 | Anti Oct3/4, Rabbit [E] | 免疫化学用 | 100μL | 48,000     |
| NEW 012-27541 | Anti Sox2, Rabbit [E]   | 免疫化学用 | 100μL | 48,000     |

### 関連商品

#### 蛍光標識 rBC2LCN

rBC2LCN は、ヒト ES/iPS 細胞の細胞表面に存在するポドカリキシン上のムチン様 O 型糖鎖である H-type3 (Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc) に高い親和性を持つため、ヒト ES/iPS 細胞の未分化マーカーとして報告されています。蛍光色素でラベル化されているため、培養液に添加するだけで、ヒト ES/iPS 細胞を生きたまま細胞染色することができます。

| コード No.   | 品名  | 規格    | 容量      | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|-------|---------|------------|
| 029-18061 | BC2LCN[AiLecS1] Lectin, recombinant, Solution [E] | 糖鎖研究用 | 1mg     | 30,000     |
| 025-18063 | 未標識品  |       | 1mg×5   | 照会         |
| 180-02991 | rBC2LCN-FITC[AiLecS1-FITC][E]                     | 細胞染色用 | 100μL   | 20,000     |
| 186-02993 | Excitation 495nm, Emission 520nm                  |       | 100μL×5 | 80,000     |
| 186-03211 | rBC2LCN-547[AiLecS1-547][E]                       | 細胞染色用 | 100μL   | 30,000     |
| 182-03213 | Excitation 551nm, Emission 565nm                  |       | 100μL×5 | 120,000    |
| 185-03161 | rBC2LCN-635[AiLecS1-635][E]                       | 細胞染色用 | 100μL   | 30,000     |
| 181-03163 | Excitation 634nm, Emission 654nm                  |       | 100μL×5 | 120,000    |

### 再生医療等製品材料適格性確認書取得済

Wako

#### トランスフェリン(アポ), ヒト血液由来

本品は、PMDA の再生医療材料適格性相談を受け、確認書を取得している製品です。開発初期段階から治験計画の届出を行う前までの再生医療等製品の製造に使用されるヒト・動物由来成分を含む材料の適格性について、PMDA の指導・助言を受け、適格性が確認された製品です。

トランスフェリンは培地添加成分として一般的に広く使用されており、培地中に含まれる鉄イオンを細胞内に運ぶ働きを担っています。

| コード No.       | 品名                                     | 規格      | 容量 | 希望納入価格 (円) |
|---------------|--|---------|----|------------|
| NEW 203-20751 | Transferrin(Apo), from Human Blood [R] | 再生医療研究用 | 1g | 95,000     |



## 再生医療等製品材料適格性確認書取得済

### NeoSERA®



NeoSERA®は、再生医療等製品材料適格性確認書を取得した100%国産の細胞培養用血清です。間葉系幹細胞や線維芽細胞などの接着系細胞において、一般的な培養法であるウシ胎児血清を10%添加した培地と比較して、優れた細胞増殖性を示します。

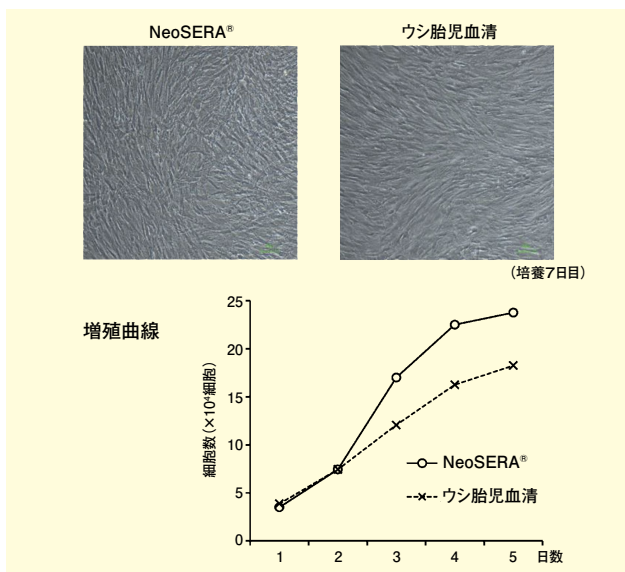
### 特長

- 生物由来原料基準の規程を満たす
- 高い細胞増殖性
- $\gamma$ 線照射済 (30kGy以上)
- 国産ウシ由来



### データ

#### ヒト骨髄間葉系幹細胞



| コード No.   | メーカーコード | 品名       | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---------|----------|-------|------------|
| 632-41645 | JBM001  | NeoSERA® | 500mL | 照会         |

## MF 登録済み

### A-83-01, MF



本品は、ALK4、ALK5、ALK7の選択的阻害剤です。EGF、CHIR99021、A-83-01、SB431542、バルプロ酸、Y-27632をともに使用することで、細胞性トロフォブラストよりヒト胎盤幹細胞 (TS細胞) を樹立することが可能と報告されています。また、Y-27632、A-83-01、CHIR99021をともに使用することで、ラット及びマウスの成熟肝細胞から *in vitro* で安定培養が可能な肝前駆細胞ヘリプログラミングするとも報告されています。

本品は、原薬等登録原簿 (マスターファイル: MF) のその他 (培地添加物) 区分に登録されています。製造工程や分析法のバリデーション、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。

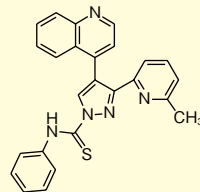
### 特長

- MF登録済み\*
- 動物由来原料不使用の化学合成品
- 合成〜包装までをすべて日本国内で実施
- 連続複数ロット合格実績の高い品質安定性

\*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

- 含量 (HPLC): 98.0%以上
- 外観: 白色〜黄色、結晶性粉末〜粉末又は塊
- 溶解性: DMSOに可溶
- エンドトキシン: 0.01 EU/mg未滿
- 生菌数試験済み
- マイコプラズマ否定試験済み



C<sub>25</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>S=421.52  
CAS RN® 909910-43-6

### 【参考文献】

- 1) Okae, H. *et al.* : *Cell Stem Cell*, **22**, 50 (2018).
- 2) Katsuda, T. *et al.* : *Cell Stem Cell*, **20**, 41 (2017).
- 3) Li, W. *et al.* : *Cell Stem Cell*, **4**, 16 (2009).

| コード No.   | 品名          | 規格 | 容量   | 希望納入価格 (円) |
|-----------|-------------|----|------|------------|
| 010-26741 | A-83-01, MF | ☑  | 5mg  | 40,000     |
| 018-26742 | A-83-01, MF | ☑  | 25mg | 135,000    |

### 関連商品

| コード No.   | 品名   | 規格  | 容量          | 希望納入価格 (円) |
|-----------|--|-----|-------------|------------|
| 059-07873 | Epidermal Growth Factor, Human, recombinant, Animal-derived-free [EGF] | ☑   | 100 $\mu$ g | 17,000     |
| 053-07871 | Epidermal Growth Factor, Human, recombinant, Animal-derived-free [EGF] | ☑   | 500 $\mu$ g | 41,000     |
| 038-23101 | CultureSure®   | ☑   | 1mg         | 12,000     |
| 034-23103 | CHIR99021  | ☑ Ⅲ | 5mg         | 40,000     |
| 032-23104 | CHIR99021  | ☑   | 100mg       | 照会         |
| 031-24291 | CultureSure®   | ☑   | 5mg         | 20,000     |
| 037-24293 | SB431542   | ☑   | 25mg        | 80,000     |
| 227-01071 | Valproic Acid  | ☑   | 5g          | 3,700      |
| 225-01072 | Valproic Acid  | ☑   | 25g         | 12,500     |
| 259-00613 | Y-27632, MF  | ☑   | 5mg         | 50,000     |
| 257-00614 | Y-27632, MF  | ☑   | 25mg        | 200,000    |

☑: 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、2018年4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。

## ES/iPS 細胞の分化誘導に

### アクチビン A 溶液, ヒト, 組換え体

Wako

アクチビン A は、TGF-β ファミリーに分類されるサイトカインです。細胞増殖や分化、アポトーシス誘導、神経細胞の生存を始め多くの活性があります。胚形成時には胚において濃度勾配を生じ、濃度に応じて分化器官が決定される作用が知られています。そのため、再生医療分野において ES/iPS 細胞の分化誘導の過程で、重要な役割を果たしています。

本品は、フィルター滅菌済みの溶液品であるため、溶解操作をすることなくご使用頂けます。


本品は、味の素株式会社が製造しています。

#### 特長

- 国内製造、変更管理
- 低エンドトキシン
- 面倒な溶解操作が不要の溶液品
- ロット間差が少ない

#### 製品概要

- 起源：E. coli expressed human activin A
- 組成：0.1mg/mL Activin A, 50mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.6 (0.2 μm フィルター滅菌済み)
- 純度 (SDS-PAGE)：97% 以上
- 生物学的活性 (ED<sub>50</sub>)：WHO 国際標準品を対象に 50 ~ 150% である  
(ヒト慢性骨髄性白血病細胞 K562 細胞を用いたヘモグロビン合成誘導能による)
- エンドトキシン：0.01EU/μg 未満

| コード No.   | 品名   | 規格    | 容量     | 希望納入価格(円) |
|-----------|--|-------|--------|-----------|
| 014-27621 | Activin A Solution, Human, recombinant  | 細胞培養用 | 10μg   | 44,000    |
| 010-27623 |  |       | 50μg   | 154,000   |
| 018-27624 |  |       | 50μg×5 | 照会        |

## 透明化試薬

### SCALEVIEW-S

Wako

SCALEVIEW-S は、宮脇敦史博士らにより開発されたソルビトールを主体とした組織透明化試薬である ScaleS の技術に基づいた製品です。

従来品の SCALEVIEW-A2 より透明化能力が向上し、構造やシグナルを適切に保持・維持することが可能です。さらには、組織内に発現する蛍光タンパク質の蛍光を明るく保持することができ、細胞膜などの微細構造の形態も維持することが可能です。

SCALEVIEW-S は透明化工程操作が簡便であり SCALEVIEW-S0 から SCALEVIEW-SMt までの計 7 種類の試

薬へサンプルを浸漬するだけで透明化処理が進みます。組織中の標識された構造物を再現よく定量的に観察可能な透明化試薬です。

#### 特長

- SCALEVIEW-A2 より透明化能力を向上
- 生体組織内の構造やシグナルを保持/維持・蛍光タンパク質の蛍光を明るく保持
- 浸漬するだけのシンプルな方法

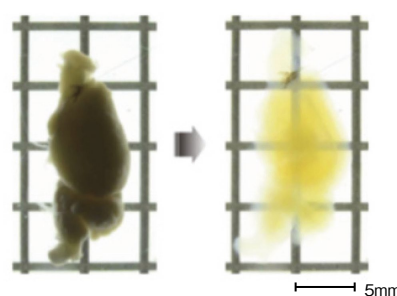


図1. 大人のマウス脳半球 (Thy1-YFP-H マウス 57 週齢) を用いて SCALEVIEW-S 処理した例

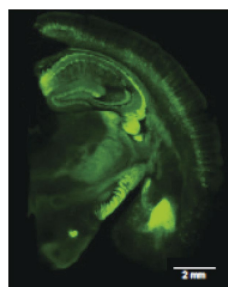


図2. 共焦点顕微鏡を用いて取得した Thy1-YFP-H マウス脳 42 週齢の蛍光画像

(データご提供：国立研究開発法人理化学研究所 脳神経科学研究センター 細胞機能探索技術研究チーム 宮脇敦史先生、濱裕先生、国立研究開発法人理化学研究所 量子工学研究センター 生命科学技術研究チーム 星田哲志先生)

#### 【参考文献】

- 1) Hama, H. *et al.* : *Protocol Exchange* (2016). doi : 10.1038/protex.2016.019.
- 2) Hama, H. *et al.* : *Nat. Neurosci.*, **18**, 1518 (2015).
- 3) 濱裕、日置寛之、並木香奈、星田哲志、黒川裕、宮脇敦史：生体の科学, **68** (1), 85 (2017).
- 4) 日置寛之、濱裕、孫在隣、黄晶媛、並木香奈、星田哲志、黒川裕、宮脇敦史：日本薬理学雑誌, **149** (4), 173 (2017).

| コード No.   | 品名                    | 規格     | 容量    | 希望納入価格(円) |
|-----------|-----------------------|--------|-------|-----------|
| 196-18521 | SCALEVIEW-S0          | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 193-18531 | SCALEVIEW-S1          | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 190-18541 | SCALEVIEW-S2          | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 197-18551 | SCALEVIEW-S3          | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 194-18561 | SCALEVIEW-S4          | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 191-18571 | SCALEVIEW-SMt         | 組織透明化用 | 250mL | 照会        |
| 041-34425 | deSca/e Solution      | 組織透明化用 | 500mL | 照会        |
| 299-79901 | SCALEVIEW-S Trial Kit | 組織透明化用 | 1キット  | 照会        |

富士フイルムワコーシバヤギ株式会社

## 3製品が追加になりました！ 正常血清／血漿検体でも測定可能

### レビス® シリーズ

#### レビス® Human IL-6 ELISA Kit

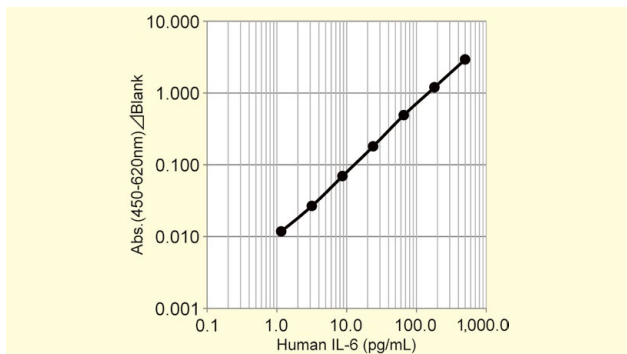
IL-6は189アミノ酸の分泌性糖タンパク質で、B細胞を抗体産生細胞に分化させるサイトカインです。IL-6は関節リウマチの病態の活動性と相関するという報告もあり、関節リウマチなど自己免疫疾患、炎症疾患の分野でも注目されています。

本品は、ヒト血清（血漿）中IL-6を短時間・微量検体・高感度で測定可能なキットです。

#### 製品概要

- 検量線範囲：1.16 ~ 500 pg/mL
- 測定時間：総反応時間3時間50分
- 検体量：100  $\mu$ L
- 測定波長：主波長450 nm/副波長620 nm
- 検体：ヒト血清/血漿（ヘパリン/EDTA）

#### 〈検量線〉



#### レビス® Human IL-8(CXCL8) ELISA Kit

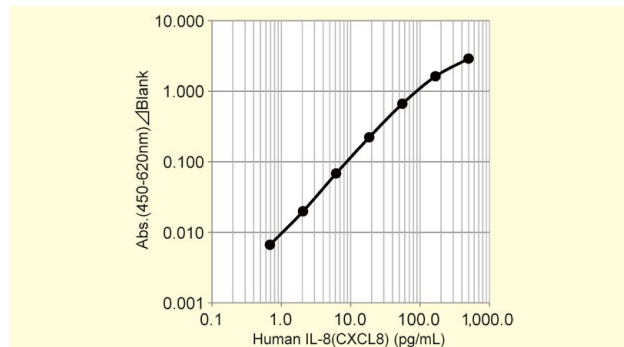
IL-8は炎症性サイトカインの刺激により線維芽細胞や単球、血管内皮細胞で産生される72または77アミノ酸の2種類のアイソフォームからなる炎症性CXCケモカインです。IL-8はさまざまな疾患との関連性が研究されており、リウマチ性関節炎、喘息などの呼吸器疾患、痛風、歯周炎、がんなどの分野で注目されています。

本品は、ヒト血清（血漿）中IL-8を短時間・微量検体・高感度で測定可能なキットです。

#### 製品概要

- 検量線範囲：0.686 ~ 500 pg/mL
- 測定時間：総反応時間3時間50分
- 検体量：100  $\mu$ L
- 測定波長：主波長450 nm/副波長620 nm
- 検体：ヒト血清/血漿（ヘパリン/EDTA）

#### 〈検量線〉



#### レビス® Human TNF- $\alpha$ ELISA Kit

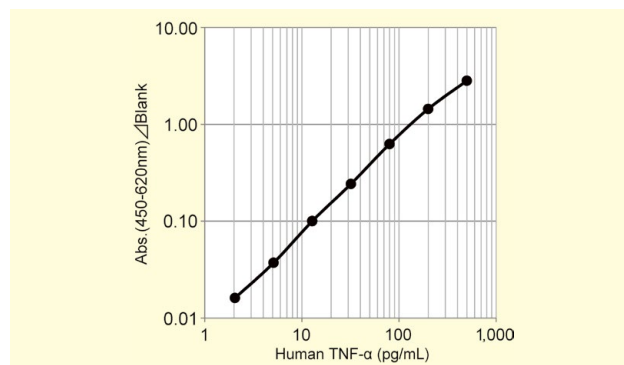
TNF- $\alpha$ はマウスに移植した腫瘍に対して出血性壊死を誘導する因子として同定された157アミノ酸の炎症性サイトカインです。TNF- $\alpha$ はさまざまな疾患との関連性が報告されており、関節リウマチ、炎症の他、糖尿病・高脂血症、腎症、敗血症、骨粗鬆症などの分野で注目されています。

本品は、ヒト血清（血漿）中TNF- $\alpha$ を短時間・微量検体・高感度で測定可能なキットです。

#### 製品概要

- 検量線範囲：2.05 ~ 500 pg/mL
- 測定時間：総反応時間3時間50分
- 検体量：100  $\mu$ L
- 測定波長：主波長450 nm/副波長620 nm
- 検体：ヒト血清/血漿（ヘパリン/EDTA）

#### 〈検量線〉



| コードNo.        | メーカーコード  | 品名                                 | 容量   | 希望納入価格(円) |
|---------------|----------|------------------------------------|------|-----------|
| NEW 635-42311 | AKH-IL6  | LBIS Human IL-6 ELISA Kit          | 96回用 | 70,000    |
| NEW 632-42321 | AKH-IL8  | LBIS Human IL-8 (CXCL8) ELISA Kit  | 96回用 | 70,000    |
| NEW 639-42331 | AKH-TNFA | LBIS Human TNF- $\alpha$ ELISA Kit | 96回用 | 70,000    |

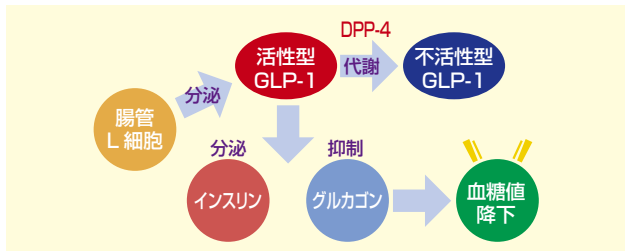


## 糖尿病研究に

### Wako 活性型 GLP-1 ELISA キットワコー, 発光系

GLP-1 は、腸管 L 細胞から分泌される消化管ホルモンで、糖刺激によるインスリン分泌の増強やグルカゴン分泌抑制を介して血糖値降下作用を示します。GLP-1 には活性型 GLP-1 ((7-36)amide 及び 7-37) と不活性型 GLP-1 ((9-36)amide 及び 9-37) があり、活性型 GLP-1 の状態で分泌されて DPP4 により速やかに不活性型 GLP-1 に代謝されます。

本品は、マウス、ラット血漿中の活性型 GLP-1 を特異的に測定できる ELISA キットです。発光検出系を採用することで高感度かつ広範囲な測定を実現しています。



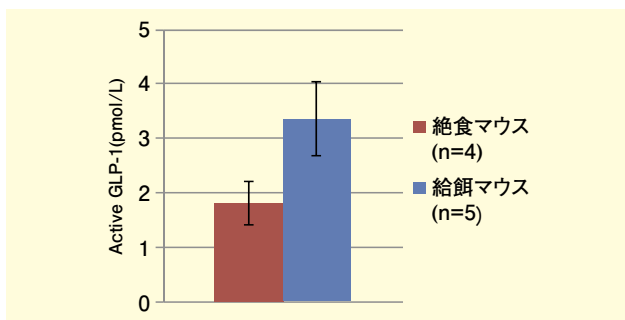
### 製品概要

|        |   |
|--------|---|
| 測定対象   | 活性型 GLP-1 (GLP-1 (7-36)amide 及び GLP-1 (7-37)) <sup>1)</sup> |
| 検量線範囲  | 0.123 ~ 30.0 pmol/L   |
| 実質測定範囲 | 0.615 ~ 150 pmol/L <sup>2)</sup>                            |
| 測定検体   | 血漿  |
| 必要検体量  | 10 μL   |
| 測定時間   | 3 時間半   |
| 交差性    | マウス、ラット   |
| 検出方法   | 発光  |
| 同時再現性  | CV < 10%  |
| 日差再現性  | CV < 10%  |

- 1) 類縁物質である GLP-1 (9-36)amide、GLP-1 (1-37)、GLP-2、グルカゴンとの反応はいずれも 0.1% 未満です。
- 2) 血漿中の阻害物質の影響を避けるため、5 倍希釈での測定を推奨しています。

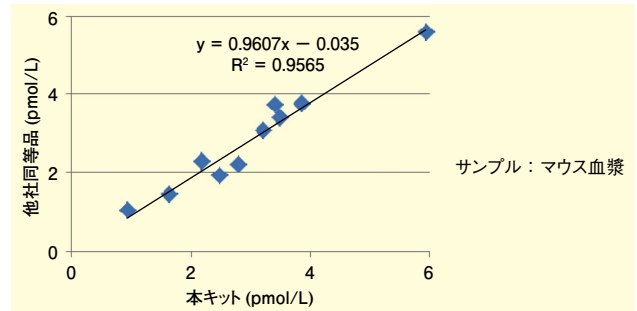
### データ

#### ■ 測定例 マウス血漿中の活性型 GLP-1 測定



給餌マウスでは絶食マウスよりも活性型 GLP-1 値が高かった。

### ■ 他社同等品との関連データ



本キットは他社同等品と高い相関が見られた。

| コード No.   | 品名  | 規格     | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|--------|-------|------------|
| 293-79301 | Active GLP-1 ELISA Kit Wako, Chemiluminescent | 糖尿病研究用 | 96 回用 | 82,000     |

### 関連商品

| コード No.   | 品名   | 規格・メーカー         | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----------|--|-----------------|-------|------------|
| 633-15121 | LBIS GLP-1 (active)<br>測定対象: 活性型 GLP-1<br>測定原理: サンドイッチ法 発色系<br>検量線範囲 (pmol/L): 0.47-15.16                              | 富士フイルムワコーシヤギ(株) | 96 回用 | 70,000     |
| 299-75501 | GLP-1 ELISA Kit Wako, High Sensitive<br>測定対象: Total GLP-1 (活性型 + 不活性型)<br>測定原理: サンドイッチ法 発色系<br>検量線範囲 (pmol/L): 0.94-30 | 糖尿病研究用          | 96 回用 | 75,000     |
| 291-59201 | Rat GLP-1 ELISA Kit Wako<br>測定対象: Total GLP-1 (活性型 + 不活性型)<br>測定原理: 競合法 発色系<br>検量線範囲 (pmol/L): 62.5-15,165             | 糖尿病研究用          | 96 回用 | 73,000     |

### 高感度なサンドイッチ法による測定

#### グルカゴン ELISA キットワコー(サンドイッチ法)



グルカゴンは、豚ランゲルハンス島の α 細胞から分泌される 29 アミノ酸からなるペプチドホルモンで、血糖値を上昇させる重要なホルモンです。主に肝臓で作用しグリコーゲンをグルコースへ分解します。

本品は、グルカゴンの N 末端認識モノクローナル抗体と C 末端認識モノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA キットです。

### 特長

- グルカゴンに対する高い特異性
- 高感度
- 少量検体 (10 μL) で測定可能

| コード No.   | 品名  | 規格     | 容量    | 希望納入価格 (円) |
|-----------|---|--------|-------|------------|
| 292-80001 | Glucagon ELISA Kit Wako (Sandwich method) | 糖尿病研究用 | 96 回用 | 95,000     |

詳しくは、当社 HP をご覧下さい。 <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/GlucagonELISAKitWako/index.htm>

☑: 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、2018 年 4 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。

# ルイス・W・アルヴァレス (1911.6.13 - 1988.9.1) と ウォルター・アルヴァレス (1940.10.3 - )

京都薬科大学名誉教授 桜井 弘

およそ2億4700万年前の中生代・三畳紀といわれる時代に地球に出現した恐竜たちは、1億8150万年もの長い間繁栄を極めていたが、中生代・白亜紀の最後の6550万年前にこの地球から忽然と姿を消した。その謎は、人々にロマンを掻き立て、これまでに数多くの絶滅説が提案されてきた。しかし近年では、白亜紀末の巨大隕石の衝突という一瞬の出来事が、恐竜絶滅の原因であろうという見解が定着している。ここにはアメリカのルイス・W・アルヴァレスとウォルター・アルヴァレス父子の鋭い観察、実験とひらめき、そして周辺の科学者たちが協力した素晴らしい物語がある。さらに、イリジウム (Ir)、プルトニウム (Pu)、レニウム (Re) などの化学元素と中性子放射化分析法が、天体衝突の科学的解明に決定的な役割を果たしたことは、きわめて重要であった<sup>1,7)</sup>。

## 恐竜絶滅のシナリオ

中生代白亜紀の地球は緑あふれる温暖湿潤な気象条件にあったと考えられている。ティラノサウルスやトリケラトプスが地上を悠々と歩き回り、ケツァルコアトルスが大空を飛び回っていた恐竜の楽園であった。しかし6550万年前のある日、突然直径10 kmにもおよぶ巨大隕石がメキシコのユカタン半島北部に落下し、楽園は地獄と化した。直後の温度は1万℃に達し、時速1000 kmをこえる爆風が吹き、吹き飛んだ放出物が再落下して地表は加熱され、地球のいたるところは灼熱の地獄となった。隕石衝突の瞬間にできたクレーターの直径は180~200 km、深さは1 km、津波の高さは300 mに達したと推測されている。衝突によって飛び散った大小さまざまな岩石や粒子のうち、1 μm以下の微細な粒子は空中を浮遊し続け、層となって大気を覆い、地上に降り積もった。樹木や動植物などが燃焼した煤(スス)も大気をさまよい、地球にそそぐ



図1. ルイス・W・アルヴァレス (左) とウォルター・アルヴァレス (右)  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Luis\\_Walter\\_Alvarez](https://en.wikipedia.org/wiki/Luis_Walter_Alvarez)

太陽光を減弱させた。地球は温暖な世界から冬のような暗い寒い環境へと激変した。10年ほどの間に気温は最大で10℃ほど低下したと推定されている。さらに、巨大隕石の衝突により、衝突地点周辺の硝酸や硫酸塩が蒸発し、大気中に放出され、それらは空気の酸素分子で酸化され窒素酸化物や硫酸化物(三酸化硫黄などの硫酸エアロゾル)などの微小な浮遊物を形成した。これらは太陽光を遮っただけでなく、大気中の水分や雨などと反応して酸性雨となり、地上に降り注ぎ、大陸や海洋を酸性化した。このような現象は数万年から数十万年続き、樹木や植物は枯れ果て、海洋プランクトンや生物、特に食物連鎖の最上位にいた恐竜たちの大量絶滅に追い込んだと考えられている。

ここに紹介した恐竜絶滅に関する巨大隕石衝突後のシナリオ以外にも、数多くの考え方が提案されている。たとえば、①火山噴火説、②地殻変動説、③海面上昇説、④太陽系近くでの超新星爆発説、⑤恐竜の伝染病説、⑥哺乳類による恐竜卵奪取説、⑦食中毒説、特に植物毒説(アルカロイドなど)、

⑧植物種変化説(シダ植物から被子植物)、⑨哺乳類発生説、⑩気象変化説、⑪地球外生物による攻撃説、そして⑫これらの複合説、などが挙げられる。これらの考え方にもとづいて隕石衝突説に対する反論が多く挙げられた。しかし、1991年に発見されたメキシコ・ユカタン半島のチチュルブ・クレーターの地層をふくめた総合的な研究により、隕石衝突説はより合理的に説明が出来るようになり、2010年以来多くの科学者の賛同を得て、仮説は強固なものとなっている。

## 物語はプレゼントからはじまった

1977年のある日、物理学者ルイス・W・アルヴァレスに、息子の地質学者ウォルター・アルヴァレスが特別なプレゼントを持ってきた(図1)。イタリア中部の都市ベルジャ近くグッピオで得た堆積岩の片面を磨いた切片がプレゼントであった。ウォルターは父にルーペで小さな岩石片をのぞかせて説明した。一番下の層の白い石灰岩には、炭酸カルシウムの中に浮遊プランクトンや有孔虫とよばれる単細胞生物の化石が無数に存在している。石灰層の上には1 cmの厚さの黒っぽい粘土層がある。その上はまた石灰岩であり、有孔虫はほとんど存在しない。「有孔虫は恐竜が姿を消したときと同時に姿を消したのです。」と父に教えた。父ルイスは、その岩石標本を手にして説明を受けたとき、胸が躍るような経験をしたという。物理学者の父と地質学者の息子による恐竜絶滅解明への旅は、こうして始まった。

## アルヴァレス父子の仕事

ルイス・W・アルヴァレスは、1911年6月13日にカリフォルニア州のサンフランシスコで生まれた。父や祖父は医師であった。アルヴァレス家ではいつも科学が話題であったという。ルイスの生涯を貫いた幅広くかつ先駆的な研究活動は、幼少期の父や祖父との

触れあいの中で形成されたのであろう。医学よりも化学や物理学に興味を示したルイスは、1928年にシカゴ大学に入学、1932年に大学院に進学した。1932年といえば、アンダーソンが陽電子を発見し、チャドウィックが中性子を発見して素粒子の数が電子と陽子を加えて4個となった年であった。さらに、ユリーが重水素と重水、ジャンスキーが宇宙電波を発見し、コッククロフトとウォルトンが粒子加速器をつくり人工核変換に成功し、ブランケットが宇宙線の観測装置“霧箱”を発明した、まさに物理学と化学の分野での驚異の大発見の年であった。このような科学の変革の潮流の中、シカゴ大学で博士の学位を得たルイスは、1936年に新設のカリフォルニア大学放射線研究所（後のローレンス・パークレー放射線研究所）の助教授となった。所長は1932年にサイクロトロンを発明したローレンスであった<sup>8)</sup>。ローレンスの下でルイスは、1937年にK電子捕獲とよばれる原子核の新しい崩壊過程を発見し、1943-44年にはプルトニウムの起爆装置の開発、そしてカリフォルニア大学で教授となり、陽子線型加速器の開発、1944年に遅い中性子の発生ビーム法の開発など、ずば抜けた才能を発芽させた。さらに1960年には、-250℃まで温度を下げた液体水素をつめた大型の泡箱をつくり、寿命がきわめて短い共鳴粒子が宇宙線の中に多数存在することを発見した。この業績により、ルイスは1968年のノーベル物理学賞に輝いた。こうして物理学の本道を進みつつ、ルイスは未知への探求にも情熱を注いだ。1966年、宇宙線と放電箱を用いてピラミッドを解体することなく内部を透視することに成功した。その結果、ピラミッド内部には秘密の部屋などは存在しないことを明らかにした。ルイスの挑戦はさらに、息子ウォルターが示した一片の岩石から、恐竜絶滅の原因を探求する研究へと続い

た。1980年にはウォルターや二人の研究者とともに Science 誌に隕石衝突による恐竜大量絶滅に関する先駆的な論文を発表した<sup>9)</sup>。しかし、その説を裏付けるクレーターが存在が発見される2年前にがんのために1988年パークレーで死去した。

ウォルター・アルヴァレスは、1940年にカリフォルニア州のパークレーで、ルイスを父として生まれた。父の物理学とは異なり、地質学に興味を持ち、1958年にミネソタ州のカールトンカレッジに入学した。さらに大学院へ進学して1967年にプリンストン大学で地質学博士の学位を得た。American Overseas Petroleum 社に入社して、オランダやリビアで石油地質技師として働いていたが、地質考古学に関心を示して会社を辞め、イタリアに移り、古代ローマ期の火山や火山帯の人口分布への影響などを研究した。その後、コロンビア大学のラモン・ドハティ地質観測所に勤務して、当時発表された新理論プレートテクトニクスの観点から地中海テクトニクスの研究を開始した。イタリアの古地磁気研究からはじまり深海底の石灰岩に残されている地磁気反転の研究に進んだ。ウォルターと仲間たちの研究は、有孔虫の生層位学の観点から、地球の歴史は1億年以上の間隔で地磁気が反転していることを示した。この時、有孔虫が姿を消したことと恐竜絶滅にはなにか関係がありそうだと気づいた。物理学や物理計測法に詳しい父ルイスとの会話がはじまり、父は隕石落下による恐竜大量絶滅説を提案した。ウォルターは、現在カリフォルニア大学パークレー校で地球および惑星科学の教授を務め、教育と研究に力を注いでいる。

### 元素と恐竜絶滅

ウォルターが父ルイスに示した堆積岩は3層からできている。下層の石灰層はドイツ語で Kreide とよばれる中



図2. K-Pg 境界  
標本は、デンマーク王国スティーブン・クリント海岸で撮影。2014年にUNESCOの世界遺産リストに登録されている。  
(神奈川県立生命の星・地球博物館ご提供)

生代白亜紀のもの、上層の石灰層は英語で Paleogene とよばれる新生代古第3紀のものである。その境界は上下の略号から K-Pg 境界とよばれ、厚さ約1cmの粘土層である(図2)<sup>10)</sup>。K-Pg境界層は、今から約6550万年前に堆積した地層であり、恐竜が絶滅した時代に一致することは19世紀末にはすでに知られていた(表1)。ウォルターが直観した重要なポイントは、下層には有孔虫が無数存在するが、粘土層から上にはほとんど存在していないことであった。このサインはなんだろうか？粘土層(境界層)の生成には、どれくらいの時間が必要であろうか？ウォルターとルイスが考え注目したのは、粘土層の元素濃度であった。まず、ベリリウム10(<sup>10</sup>Be)の検出を考

表1. 簡単な地質年代表

|         |      |          |               |
|---------|------|----------|---------------|
| 新生代     | 新第3紀 | 2400万年前  |               |
|         | 古第3紀 | 6550万年前  | <b>K-Pg境界</b> |
| 中生代     | 白亜紀  | 14300万年前 |               |
|         | ジュラ紀 | 21200万年前 |               |
|         | 三畳紀  | 24700万年前 |               |
| 古生代     |      | 57500万年前 |               |
| 先カンブリア紀 |      | 60000万年前 |               |



表2. イリジウム (Ir) 周辺の主な親鉄元素 (赤字)

|    | 族        |          |          |          |          |          |
|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 周期 | 6        | 7        | 8        | 9        | 10       | 11       |
| 4  | 24<br>Cr | 25<br>Mn | 26<br>Fe | 27<br>Co | 28<br>Ni | 29<br>Cu |
| 5  | 42<br>Mo | 43<br>Tc | 44<br>Ru | 45<br>Rh | 46<br>Pd | 47<br>Ag |
| 6  | 74<br>W  | 75<br>Re | 76<br>Os | 77<br>Ir | 78<br>Pt | 79<br>Au |

えたが、<sup>10</sup>Beの半減期が約150万年であるため、これは使えなかった。ついで話題にしたのは、隕石中の元素濃度であった。隕石中の白金、金など性質のよく似た元素は地殻中よりも約1万倍高いことがすでに知られていた。これらの金属元素は鉄と合金をつくりやすいため親鉄元素<sup>11)</sup>とよばれている。原始地球では、密度の高い鉄をはじめ親鉄元素は地球の引力により地球の中心に向い地球内部に潜り込んでいくため(分化作用という)、地殻中には少ない。しかし宇宙を漂う隕石は小さいため、分化作用がなく親鉄元素が一様に分布している。ルイスは、境界層の親鉄元素の濃度を測れば堆積速度がわかると考えた。どの測定法がいいのか?候補に上ったのは、中性子放射分析化分析法であった。ローレンス・パークレー放射線研究所の原子核化学者のフランク・アサロとヘレン・マイケルに依頼して白金、金、イリジウム、オスミウム、レニウムなどを分析した(表2)。研究グループのメンバーはその結果に驚いた。境界層のイリジウム濃度のみが、上下層に比べて約30倍高い値を示した。イタリアのみならずデンマーク、スペイン、ニュージーランドで発見された境界層ではイリジウム濃度がもっと高かった<sup>12)</sup>。堆積速度など問題にならなかった。この異常値の高さから、イリジウムは何らかの原因で宇宙から地球に短期間に運ばれたと考えた。しかし、その原因はなんだろう?最初に想定された原因は、超新星爆発であった。しかし、爆発によって地球にもたらされた元素はイリジウムだけでなく、他の元素も検出され

るはずである。そこで、プルトニウム244 (<sup>244</sup>Pu; 半減期8110万年)が測定されたが、検出されなかった。超新星爆発は否定され、議論の末、最終的な可能性として隕石の落下が想定された。境界層のイリジウム濃度から計算して、直径約10 kmの巨大隕石が地球に落下したと推測して、アルヴァレスたち4名で1980年のScienceに結果を論文として掲載した<sup>8)</sup>。境界層の高いイリジウム濃度については、他のいくつかのグループからも発表され、隕石衝突と境界層イリジウムの問題は広く知られるようになった。さらに、境界層のレニウム187とレニウム185の同位体比(<sup>187</sup>Re/<sup>185</sup>Re)を調べたところ、地殻の岩石の比と同じことがわかった。この結果は、衝突した天体は太陽系由来の隕石であることを示唆した。

さて隕石が落下したクレーターはどこにあるのだろうか?世界の多くの研究者たちが巨大クレーターを探したがなかなか見つからなかった。しかし、意外にも1980年ころに発見されていた。メキシコのユカタン半島の地下にあるらしいことを知っていたのは、メキシコ国営石油開発公団で油田発見のため地磁気の調査を行っていたグレン・ペンフィールドであった。彼は、この地域の地磁気異常を観測していた。しかし、この知見は10年ほど語られずにいたが、1990年になり、アリゾナ大学の大学院生アラン・ヒルデブランドがペンフィールドに協力を依頼して、地下1 kmの堆積層にクレーターが存在することを確信した。1991年のGeologyに論文が出版され、チ

チュルブ(Chicxulub)クレーターと名づけられた<sup>13)</sup>。この論文が掲載されたとき、ルイス・W・アルヴァレスはすでに亡くなっていた。

こうして、アルヴァレス父子のパイオニア的な観察と実験、そして人々との協同研究により、天体衝突-イリジウム-恐竜大量絶滅説は、国際的に認められるようになっていく<sup>6,7,14)</sup>。

### 【参考文献とノート】

- 1) リチャード・ミュラー、手塚治虫監訳:「恐竜はネメシスを見たか」(集英社)(1987)。
- 2) 小山慶太:「異貌の科学者」(丸善ライブラリー)(1991)。
- 3) 松井孝典:「地球大異変 恐竜絶滅のメッセージ」(ワック)(1997)。
- 4) 平山廉、復元画 小田隆:「最新恐竜学」(平凡社)(1999)。
- 5) ジェームス・ローレンス・パウエル、寺嶋英志訳、瀬戸口烈司訳:「白亜紀に夜がくる-恐竜の絶滅と現代地質学」(青土社)(2001)。
- 6) 後藤和久:「決着!恐竜絶滅論争」(岩波書店)(2011)。
- 7) 松井孝典:「天体衝突 齊一説から激変説へ地球、生命、文明史」(講談社)(2014)。
- 8) ローレンスの指導を受けた人々の中から、シーボグ、マクミラン、リビーそしてアルヴァレスの4人がノーベル化学賞や物理学賞を受賞した。
- 9) Alvares, L. W., Alvares, W., Asaro, F. and Michel, H. V.: "Extraterrestrial cause for the Cretaceous-Tertiary Extinction", *Science*, **208**, 1095 (1980)。
- 10) 以前は、新生代第三紀はTertiaryとされ、この境界は第三紀の頭文字TをとってK-T境界とよばれていた。その後、第三紀は古第三紀と新第三紀の2つに分けられるようになり、1989年の国際地質科学連合で、この境界は「K-Pg境界」に決められた。
- 11) スイスの鉱物学者ゴールドシュミット(1888-1947)は、周期表の元素を化学的類似性にもとづいて親鉄、親銅、親石、親鉄および希少元素に分類した。親鉄元素はマンガン、鉄、コバルト、ニッケル、ルテニウム、ロジウム、パラジウム、レニウム、オスミウム、イリジウム、白金、金などである。
- 12) K-Pg境界は、世界の350地点以上で確認されている。日本では、北海道十勝郡浦幌町の茂川流布川中に見出されている。
- 13) Hildebrand, A. R., Penfield, G. T., Kring, D. A., Pilkington, M., Camargo Z. A., Jacobsen, S. B. and Boynton, W. V.: "Chicxulub Crater: A possible Cretaceous/Tertiary boundary impact crater on the Yucatan Peninsula, Mexico", *Geology*, **19**, 867 (1991)。
- 14) Schulte, P. and 40 authors: "The Chicxulub asteroid impact and mass extinction at the Cretaceous-Paleogene boundary", *Science*, **327**, 1214 (2010)。

# 社名及びラベルデザイン変更のお知らせ

平素は格別のお引き立てを賜り、心より御礼申し上げます。  
さて、このたび弊社は平成 30 年 4 月 1 日をもちまして、  
下記のとおり社名を変更することとなりました。

新社名：富士フイルム和光純薬株式会社  
FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

※住所、電話番号の変更はございません。

社名変更に伴いブランドロゴも変更となります。

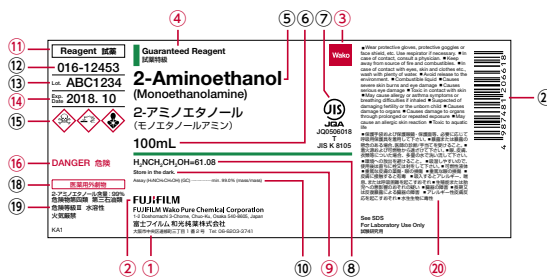
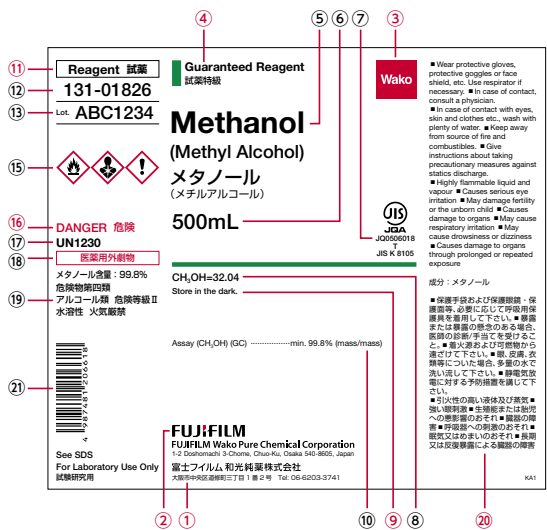
今後ともご愛顧賜りますようお願い申し上げます。

ラベルの表示内容につきまして、以下の通り変更いたします。

## 新社名及び新ブランドロゴの切り替え時期について

|       |   |
|-------|---|
| ラベル   | 平成 30 年 4 月製造分より新ラベルへ変更します。<br>当面は現行ラベル品が並行して流通します。                                     |
| 検査成績書 | 平成 30 年 4 月以降発行分より新社名に変更します。  |
| SDS   | 平成 30 年 4 月より順次新社名へ変更しますが当面は現行社名の SDS も流通します。   |
| 包装材料  | 一部現行の社名、ブランドロゴが表記されている包装材料は順次変更しますが、当面は平成 30 年 4 月以降も流通します。<br>材質には変更はないため品質に影響はございません。 |

## ● 新ラベル(例)



## 表示項目

- ① 社名・住所
- ② コーポレートブランドロゴ  
富士フイルムグループ統一のロゴを使用します。
- ③ 製品ブランドロゴ  
国内、海外で統一のロゴを使用します。
- ④ グレード  
ラベルの基本色は、下記のグレードを示します。  
試薬 特級   
試薬 一級   
化学用   
用途別試薬
- ⑤ 製品名
- ⑥ 容量
- ⑦ 工業標準化法に基づく表示
- ⑧ 化学式
- ⑨ 保管条件
- ⑩ 製品規格値
- ⑪ 試薬表示
- ⑫ 製品コード番号
- ⑬ 製造番号
- ⑭ 使用期限/保証期限、製造年月/製造年月日  
使用期限/保証期限は、「Exp.Date」で表示します。  
製造年月/製造年月日は、「Mfg.Date」で表示します。
- ⑮ GHS 対応絵表示
- ⑯ GHS 対応注意喚起語
- ⑰ UN No. (国連番号)
- ⑱ 毒物及び劇物取締法に基づく表示
- ⑳ 消防法に基づく表示
- ㉑ 注意書き・危険有害性情報  
労働安全衛生法等に基づく表示も含まれます。
- ㉒ パーコード

※赤字が変更箇所

## ● 現行ラベル



貯蔵温度: 2~10℃保存 (F), 20℃保存 (F), 80℃保存 (80), 150℃保存 (150) 表示がない場合は室温保存です。  
特定 1...特定毒物 2...特定毒物 3...毒物 4...劇物 5...毒薬 6...劇薬 7...危険物 8...向精神薬 9...特定麻薬向精神薬原料  
10...化審法 第一種特定化学物質 11...化審法 第二種特定化学物質 12...化学兵器禁止法 第一種指定物質 13...化学兵器禁止法 第二種指定物質 14...カルタヘナ法  
15...覚せい剤取締法 16...国民保護法  
掲載内容は、2018年4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. 86 No. 2  
2018年4月15日発行  
発行責任者 糸博之  
編集責任者 大西礼子  
発行所 富士フイルム和光純薬株式会社  
〒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 ffwk-jjho@fujifilm.com

● 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.

■ 富士フイルム和光純薬株式会社 (Japan)  
http://www.wako-chem.co.jp  
フリーダイヤル (日本のみ) 0120-052-099  
フリーファックス (日本のみ) 0120-052-806  
E-mail ffwk-labchem-tec@fujifilm.com

■ Wako Overseas Offices :  
・ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation http://www.wakousa.com  
Toll-Free (U.S. only) +1 877 714 1920  
Tel +1 804 714 1920 / Fax +1 804 271 7791  
・ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH http://www.wako-chemicals.de  
European Office (Neuss, Germany) : Tel +49 2131 311 0 / Fax +49 2131 311 100