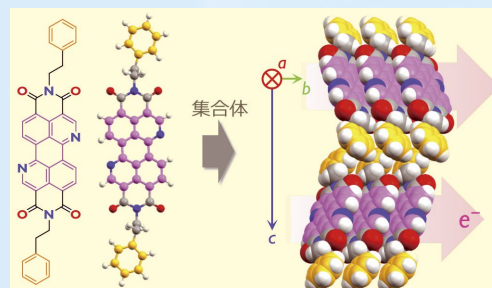
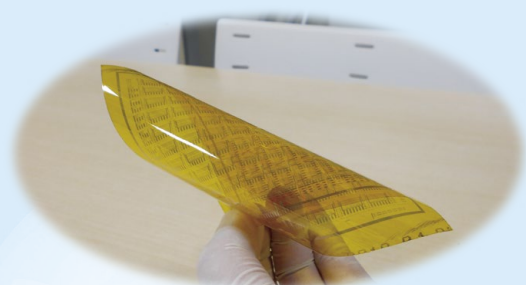


和光純薬時報

July 2020
Vol.88 No.3



【総説】

「ロバストな高移動度 n 型有機半導体材料の開発」

岡本 敏宏、熊谷 翔平…………… 2

〈テクニカルレポート〉

「簡便性と正確性の両立を目指したエンドトキシン試験法の紹介」

脇 厚生…………… 6

「細胞懸濁保存液セルストア[®]S 及び細胞洗浄保存液セルストア[®]W を用いたヒト脂肪由来間葉系幹細胞の保存例」

藤田 泰毅…………… 8

【連載】

〈遺伝子解析 新技術とその応用〉 **新連載**

「第 1 回 Stilla 社 Naica System を用いたデジタル PCR による超微量ウイルス DNA の定量解析の一例」

佐藤 賢文…………… 10

〈ミクログリア研究の最前線 —基礎から臨床へ—〉 **新連載**

「第 1 回 神経障害性疼痛」

津田 誠…………… 12

【化学大家】

「丹下 梅子」

青木 孝良…………… 25

【製品紹介】

有機合成

高移動度 n 型有機半導体材料「PhC2-BQQDI」…………… 5

RAFT 剤…………… 20

ナノ粒子触媒「Rh-Pt/(DMPSi-Al₂O₃)」…………… 28

環境・分析

ICP 分析用単元素標準液…………… 17

高純度 NMR 溶媒…………… 18

球状シリカゲル「Wakosil[®]60」…………… 18

パルミチン酸レチノール標準液…………… 19

ノトカトン標準品…………… 19

ポジティブリスト関連農薬・動物用医薬品標準品…………… 19

免疫

抗Iba1, ウサギ抗体 (免疫細胞化学用)…………… 14

Mature BDNF ELISA キットワコー…………… 15

抗CD81, ラットモノクローナル抗体 (9B), ビオチン結合…………… 16

SPICA Dye[™] 568 標識 抗Iba1, ウサギ抗体…………… 17

遺伝子

GenapSys[™] シーケンサー、GenapSys[™] シーケンス前処理装置…………… 21

SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit…………… 22

3 カラーデジタル PCR 「ナイカシステム」…………… 23

培養

セルストア[®]S、セルストア[®]W…………… 9

リシルエンドペプチダーゼ[®], 組換え体, バイオ医薬分析用 (rLys-C)…………… 24

CultureSure[®] ALK5 阻害剤II 【RepSox】…………… 24

L A L

リムルス ES-II プラス CS シングルテストワコー…………… 7

トキシノメーター ET-Mini 有線セット、…………… 7

トキシノメーター ET-Mini 無線セット…………… 7

その他

除菌用 80vol% エタノール…………… 23

【お知らせ】

最新版 生薬試薬用試薬カタログのご紹介…………… 19

はじめに

情報化社会の発達が急速に進む現代において、スマートフォンやパソコンなどの電子機器・情報端末は私たちの日常生活において欠かすことのできないものとなっている。このような機器には現在シリコンを主とした無機半導体デバイスが利用されているが、重い、硬い、またデバイス作製に 300–1000 °C の高温が必要など、多用途性や環境負荷などの面から改善が望まれる。そこで近年では、有機半導体を用いたデバイス（有機半導体デバイス）が関心を集めている。有機半導体は弱い分子間力により集合した分子性固体であり、軽量かつ機械的に柔軟であることに加え、印刷による 100 °C 程度の低温プロセスが適応可能であり、プリントド/フレキシブルエレクトロニクスに根差した多種多様なハイエンドデバイスの開発において鍵となる半導体材料として期待されている。

例えば、有機半導体デバイスの一つである有機電界効果トランジスタ（Organic Field-Effect Transistor, OFET）は集積論理回路などへの応用が期待されるが、その社会実装を実現するためには、デバイス性能の指標である電荷移動度（以下、移動度と略す）の向上が必須である。共有結合からなる無機半導体とは対照的に、有機半導体では分子軌道の弱い重なりを介して電荷輸送を行っているため、移動度が低くなりやすい。また、弱い分子間力により集合体構造を形成しているために、室温で様々な分子運動（分子間振動）することで移動度が低下することも報告されている¹⁻³⁾。両者を克服する手段として、固体中で分子間力を高めることによる分子間振動の抑制と、密な集合体構造を形成させることによる分子軌道の重なるの増強が重要と考えた。言い換えると、無機半導体の高い電荷輸送性の起源であるバンド

伝導モデルに基づいた有機半導体の開発である^{4,5)}。バンド伝導モデルにおいて、特に分子間力を高めることによる移動度向上の方策は、一方で溶解性の低下を招き、印刷プロセス適性を有する有機半導体の開発は容易でない。

有機半導体の電荷輸送を担うベンゼン環などの π 電子系化合物は、OFET において大気安定な電極としてよく用いられる金（Gold）や炭素（Carbon）電極と正孔の輸送に携わる最高被占軌道（Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO）の相性を考慮すると、正孔輸送性（p 型）有機半導体の開発が容易であるため、活発に研究開発が行われている。p 型有機半導体に関しては、アモルファスシリコンよりも 1 桁以上高い $10 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 級の移動度を有し、印刷プロセス適性且つ高い環境ストレス耐性を示す材料が報告されている^{6,8)}。しかしながら、ハイエンドデバイス開発のためには、同様の性能を示す電子輸送性（n 型）有機半導体の開発が急務である。n 型有機半導体では、キャリア注入障壁と大気安定性の観点から、そもそも電子の輸送に携わる最低空軌道（Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO）準位を十分に深めることが大前提となるために、分子設計における制限が多く、p 型有機半導体と比べて材料開発は極めて遅れている。

我々は最近、①深い LUMO 準位 ($E_{\text{LUMO}} : \leq -4.0 \text{ eV}$ vs. 真空準位)、②

有効な分子軌道の重なり（トランスファー積分または有効質量）、③分子間振動の抑制を達成し得る、バンド伝導モデルに基づいた実用に耐えうる高性能 n 型有機半導体材料の開発を報告している⁹⁾。本研究では、これまで活発に研究がなされている代表的な n 型有機半導体分子の一つである 3,4,9,10-ペリレンテトラカルボン酸ジイミド（Perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide, PDI）骨格に対し、窒素元素を導入した新規なベンゾ [de] イソキノリノ [1,8-gh] キノリン-3,4,9,10-テトラカルボン酸ジイミド（Benzo[de]isoquinolino[1,8-gh]quinoline-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide, BQQDI）骨格を設計した（図 1）。電気陰性な窒素原子を π 電子系骨格中に導入することで、BQQDI は PDI に比べて 0.36 eV 深い E_{LUMO} を有することが密度汎関数（Density Functional Theory, DFT）計算により予想された。同時に、最適な位置に導入された窒素原子は隣接した水素原子やカルボニル基の酸素原子を巻き込んだ多点相互作用を形成すると想定され、加えて π 共役面同士が積層することで、密な二次元集合構造をとることが期待された。

本稿では、塗布型単結晶 OFET 評価によって特に高移動度を示したフェネチル基 ($R = \text{C}_2\text{H}_4\text{Ph}$) をイミド基の窒素原子上に有する PhC₂-BQQDI に関して、合成、化学安定性、集合体構造および OFET 特性とその環境スト

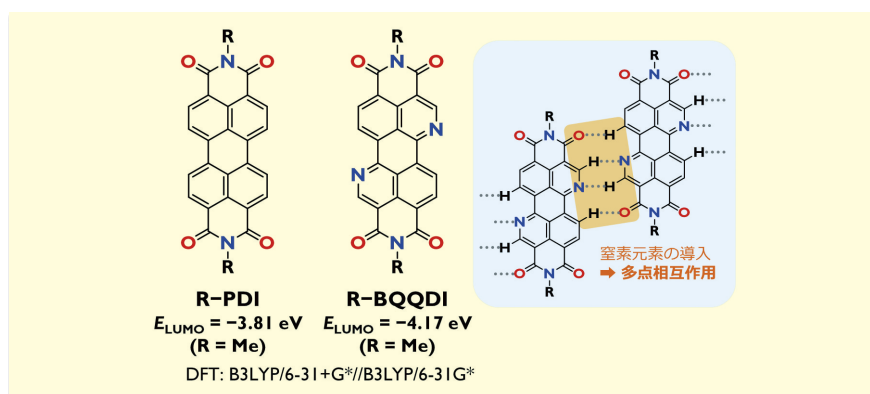


図 1. BQQDI 骨格の分子設計

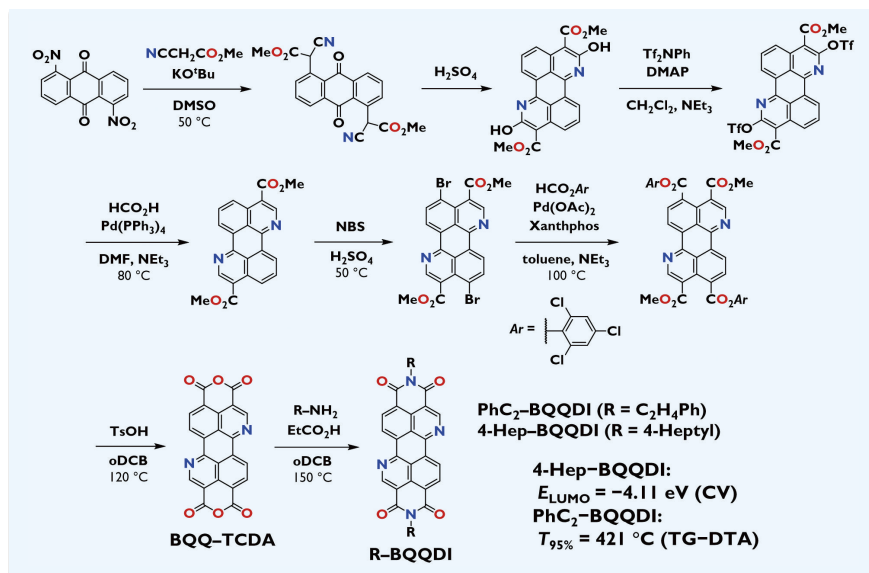
レス耐性について解説する。

合成

まず1,5-ジニトロアントラキノンを出発原料として7ステップでBQQ酸無水物(BQQ-TCDA)を合成した(スキーム)。BQQ-TCDAはBQQDI誘導体合成のための鍵化合物であり、置換基とするアミンおよびプロピオン酸の存在下、*o*-ジクロロベンゼン中で加熱することで、様々な置換基を有するBQQDI誘導体(R-BQQDI)を合成することができる。反応後、粗体は再結晶および昇華精製により精製可能であり、例えばPhC₂-BQQDIは昇華精製を一度行うことでデバイス評価に適した品質(>99%、LC純度)の材料として得ることができた。

LUMO 準位の推定、大気・熱安定性評価

BQQDI誘導体の E_{LUMO} は、溶解性に優れるアルキル置換BQQDI(4-Hep-BQQDI)を用いたサイクリックボルタンメトリー(Cyclic Voltammetry, CV)により、-4.11 eVと推定された。この値は計算値とよく一致しており、PhC₂-BQQDIを含みイミド上にアルキル鎖を有するBQQDI誘導体ではほぼ共通の E_{LUMO} を有すると言える。窒素気流下での熱重量-示差熱分析(Thermogravimetry-Differential Thermal Analysis, TG-DTA)によりPhC₂-BQQDIの熱物性を評価したところ、5%重量減少を示した温度($T_{95\%}$)である421 °Cまで分解や相転移を示唆する熱異常が観測されなかった。このことから、PhC₂-BQQDIが高い熱安定性を有しており、昇華精製による高品質の材料が得られたことを裏付けた。また、4-Hep-BQQDIの溶液、または真空蒸着法により成膜された厚み100 nmのPhC₂-BQQDI薄膜について、大気保管の下、紫外可視分光光度計を用いた紫外可視吸収



スキーム. R-BQQDIの合成と基礎物性

(UV-Vis) スペクトルの経時変化を観察した。溶液、薄膜いずれにおいても一ヶ月間UV-Visスペクトルに変化は見られず、BQQDI誘導体の高い大気・化学安定性が確認された。

集合体構造解析と伝導計算

PhC₂-BQQDIの単結晶X線構造解析を室温で行ったところ、図2に示

ような集合体構造が観測された。特に、隣接するBQQDI骨格間では分子設計で目論んだ多点分子間相互作用が実際に見られ、全体としては、二次元的な電荷輸送を可能とするブリックワーク型集合体構造を構築することが明らかとなった。また、興味深いことに、フェネチル側鎖のフェニル基は各二次元層構造間でネットワーク状の相互作用を形成していた。結晶構造を基

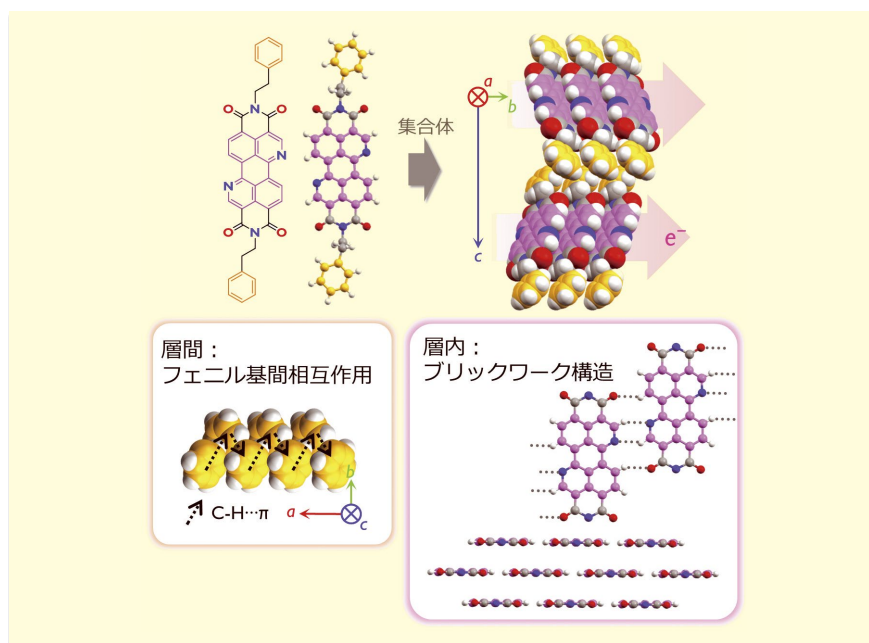


図2. PhC₂-BQQDIの単結晶構造

に電荷輸送能を見積もるために、トランスファー積分の計算を行った結果、 π 共役面が積層 (π スタック) した隣接分子間だけでなく、分子横方向に多点相互作用した隣接分子間においても優れた t 値が算出された。すなわち、 π スタックと直交方向に対しても有効な伝導パスを付与できた。この結果、得られた二次元的な電子伝導性は、バンド計算により示された異方性の小さな有効質量に繋がった。

トランジスタ特性とその環境ストレス耐性評価

PhC₂-BQQDI の OFET 評価は、真空蒸着法により得られた多結晶薄膜および塗布製膜法の一つであるエッジキャスト法¹⁰⁾により得られた単結晶薄膜のそれぞれについて実施した(以下、それぞれ多結晶 OFET、単結晶 OFET と略す)(表)。多結晶 OFET は大気中でも良好に n 型駆動し、また大気中での長期保管に対しても極めて安定であり、一ヶ月後でも初期の 90% 以上の移動度が保たれていた。成膜条件の最適化などにより、多結晶 OFET の性能はさらに向上することが見込まれる。一方、単結晶 OFET (図 3) は、大気中、最大で $3 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の移動度を示し且つ、近年提案された信頼性因子¹¹⁾は 89% と推定された。またホール効果測定でも、バンド伝導性および同等の高移動度が実証された。したがって、PhC₂-BQQDI はバンド伝導性に立脚した高移動度かつ高信頼性の n 型有機半導体材料として大きな期待が持たれる。さらに、単結晶 OFET はシリコン基板・プラスチック基板問わず作製可能であり、半年以上の長期大気安定性や 150 °C を超える高熱ストレス耐性を有することが確認された。加えて、フォトリソグラフィ技術を用いた集積回路への応用試験にも成功しており、比較的過酷な環境ストレスやデバイス作製プロセスへの耐性も高い、実用的な材料である

表. PhC₂-BQQDI の OFET 特性まとめ

製膜法	基板温度 T_{sub} (°C)	最高電子移動度 ^a μ_{max} ($\text{cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	閾値電圧 ^b V_{th} (V)
エッジキャスト法 (単結晶 OFET)	120–130	3.0	3–7
真空蒸着法 ^c (多結晶 OFET)	140	0.49	1–3

a) 飽和領域で評価、チャンネル長 200 μm 。b) ゲート絶縁体は薄く表面処理された 200 nm 厚の SiO₂。c) 半導体膜厚 40 nm。

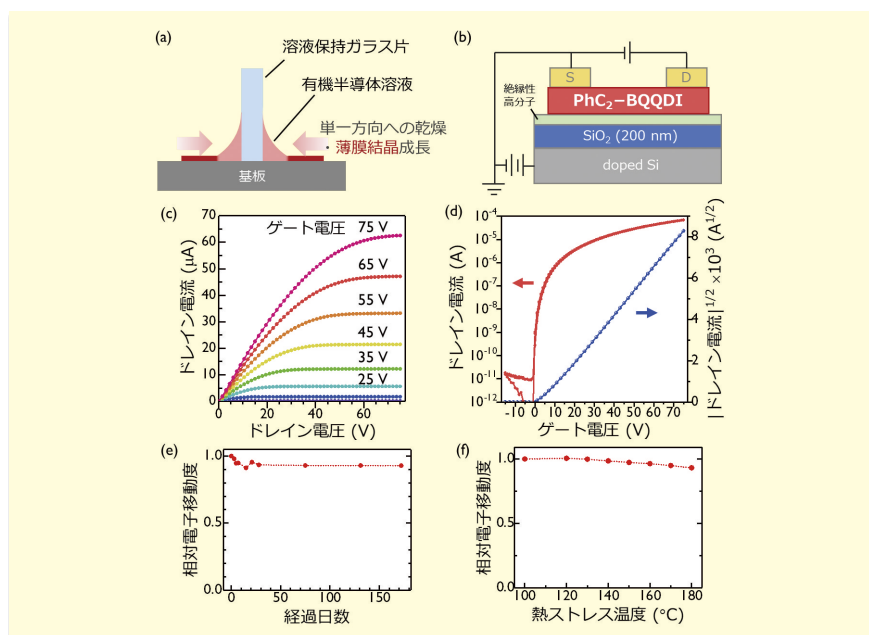


図 3. PhC₂-BQQDI 単結晶 OFET

(a) エッジキャスト法の模式図。(b) 素子構造。(c) 大気下での出力特性。(d) 大気下での伝達特性(ドレイン電圧 = 75 V)。(e) 大気中保管に対する安定性試験。(f) 熱ストレス耐性試験(アルゴン雰囲気下)。

ことが明らかとなった。

分子動力学計算による分子間振動の検証：既存材料との比較を通じて

PhC₂-BQQDI における分子設計指針の効果を検証する上で、バンド伝導性を示すことが知られる PDI-FCN₂¹²⁾ と比較、検証を行った。同様の素子構造での PDI-FCN₂ 単結晶 OFET は最大移動度 $1.3 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ となった一方、バンド計算から得られる有効質量の結果では、PhC₂-BQQDI よりも高い移動度が予期された。そこで、両者の単結晶構造解析の結果を基に分子動力学 (Molecular Dynamics, MD) 計算を行い、一定時間後の座標

を用いてトランスファー積分のバラつきを分析した。その結果、PDI-FCN₂ は PhC₂-BQQDI よりも激しく運動するためにトランスファー積分のバラつきが大きく、分子間振動により電子伝導が妨げられることが示唆された。このことから、BQQDI 骨格自身が形成する隣接分子との多点相互作用による分子間力の増強や、特に PhC₂-BQQDI で見られた側鎖間の相互作用は、電荷輸送に関与する分子運動の抑制に重要な役割を果たしていることが推察される。また同時に、分子間振動を抑制することが、今後の有機半導体の高移動度化において非常に重要な研究開発戦略であることを意味すると言える。

おわりに

本研究では、分子軌道準位・集合構造・分子間振動を同時に制御可能な合理的な分子を設計し、実現することで、電子移動度および環境ストレス耐性にも優れる実用的な高性能 n 型有機半導体の開発に成功した。PhC₂-BQQDI をはじめとする本 BQQDI 骨格は、フレキシブルディスプレイや IoT テクノロジーに必須の電子タグあるいはマルチセンサーなど、多岐に渡る次世代有機半導体デバイスにおける研究・産業の戦略材料となることが期待される。また、枚挙にいとまがない有機化合物の構造多様性および創造性に立ち返ると、本研究で得られた知見を基軸とした新しい分子設計の繁栄が、今後革新的な有機半導体材料への発展に繋がることが大いに期待されるだろう。

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. 17H03104)、科学技術振興機構さきがけ「微小エネルギーを利用した革新的な環境発電技術の創出」領域(谷口研二研究総括、秋永広幸研究副総括)(No. JPMJPR17R2)、富士フイ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る。

【参考文献】

- 1) Kubo, T., Häusermann, R., Tsurumi, J., Soeda, J., Okada, Y., Yamashita, Y., Akamatsu, N., Shishido, A., Mitsui, C., Okamoto, T., Yanagisawa, S., Matsui, H. and Takeya, J.: *Nat. Commun.*, **7**, 11156 (2016).
- 2) Illig, S., Eggeman, A. S., Troisi, A., Jiang, L., Warwick, C., Nikolka, M., Schweicher, G., Yeates, S. G., Geerts, Y. H., Anthony, J. E., Sirringhaus, H.: *Nat. Commun.*, **7**, 10736 (2016).
- 3) Tsurumi, J., Matsui, H., Kubo, T., Häusermann, R., Mitsui, C., Okamoto, T., Watanabe, S. and Takeya, J.: *Nat. Phys.*, **13**, 994 (2017).
- 4) Takeya, J., Tsukagoshi, K., Aoyagi, Y., Takenobu, T. and Iwasa, Y.: *Jpn. J. Appl. Phys.*, **44**, L1393 (2005).
- 5) Podzorov, V., Menard, E., Rogers, J. A. and Gershenson, M. E.: *Phys. Rev. Lett.*, **95**, 226601 (2005).
- 6) Okamoto, T., Mitsui, C., Yamagishi, M., Nakahara, K., Soeda, J., Hirose, Y., Miwa, K., Sato, H., Yamano, A., Matsushita, T., Uemura, T. and Takeya, J.: *Adv. Mater.*, **25**, 6392 (2013).
- 7) Mitsui, C., Okamoto, T., Yamagishi, M., Tsurumi, J., Yoshimoto, K., Nakahara, K., Soeda, J., Hirose, Y., Sato, H., Yamano, A., Uemura, T. and Takeya, J.: *Adv. Mater.*, **26**, 4546 (2014).
- 8) Mitsui, C., Tsuyama, H., Shikata, R., Murata, Y., Kuniyasu, H., Yamagishi, M., Ishii, H., Yamamoto, A., Hirose, Y., Yano, M., Takehara, T., Suzuki, T., Sato, H., Yamano, A., Fukuzaki, E., Watanabe, T., Usami, Y., Takeya, J. and Okamoto, T.: *J. Mater. Chem. C*, **5**, 1903 (2017).
- 9) Okamoto, T., Kumagai, S., Fukuzaki, E., Ishii, H., Watanabe, G., Niitsu, N., Annaka, T., Yamagishi, M., Tani, Y., Sugiura, H., Watanabe, T., Watanabe, S. and Takeya, J.: *Sci. Adv.*, **6**, eaaz0632 (2020).
- 10) Uemura, T., Hirose, Y., Uno, M., Takimiya, K. and Takeya, J.: *Appl. Phys. Express*, **2**, 111501 (2009).
- 11) Choi, H. H., Cho, K., Frisbie, C. D., Sirringhaus, H. and Podzorov, V.: *Nat. Mater.*, **17**, 2 (2017).
- 12) Minder, N. A., Ono, S., Chen, Z., Facchetti, A. and Morpurgo, A. F.: *Adv. Mater.*, **24**, 503 (2012).

高移動度 n 型有機半導体材料

Wako

PhC2-BQQDI

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 165-28601	PhC2-BQQDI	機能性有機材料用	100mg	80,000

関連製品

p 型有機半導体材料

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
208-20821	TBBT-C ₄	機能性有機材料用	100mg	75,000
205-20831	TBBT-C ₁₀	機能性有機材料用	100mg	75,000
204-20801	TBBT-H ₂	機能性有機材料用	250mg	40,000
201-20811	TBBT-Br ₂	機能性有機材料用	250mg	45,000

簡便性と正確性の両立を目指したエンドトキシン試験法の紹介

量子科学技術研究開発機構 量子医学・医療部門 信頼性保証・監査室 脇 厚生

エンドトキシンはグラム陰性細菌の細胞壁成分であり、極微量で発熱性や様々な生物活性を有する為、注射剤や医療機器はエンドトキシン汚染を厳密に管理することが求められている。エンドトキシンは、カプトガニの血球抽出物の血液凝固系を利用した試薬（ライセート試薬）を用いて世界中で広く測定されている。日本では、1988年に第十一改正日本薬局方追補（JP）に初めてエンドトキシン試験が記載され、2013年に日米欧の三極のエンドトキシン試験法に関して国際調和が完了している。

日本薬局方エンドトキシン試験（以下、「局方試験法」という）は検体の測定試験の前に、局方に規定された方法による予備試験が必要である。局方試験法の光学的定量法では、「検量線の信頼性確認試験」「反応干渉因子試験」を行い、局方に記載されている基準に適合する必要がある。また、測定試験では測定毎に検量線を用意するとともに反応干渉因子サンプルを設置し、測定試験内でそれぞれの基準を満たさなければ測定試験が成立しないこととしている。

この様に局方試験法は測定値の信頼性を確保できるよう厳密に設計されているが、例えば、毎日ロット製造する薬剤に局方試験法を適用すると、時間とともにコスト（最低12試験管が必要）が膨大となるため、局方試験法と同等の信頼性を有する、より簡便なエンドトキシン測定方法が要望されていた。

短半減期の放射性同位元素を使用した放射性薬剤を病院内で製造し、がんや認知症の診断を行うPETは、保険適応され広く行われているが、そのPET診断を推進する日本核医学会は、放射線医学総合研究所（現、量子科学技術研究開発機構）や関係大学、およびエンドトキシン装置メーカーと共同で、院内製造PET薬剤に適したエンドトキシン試験法を開発してきた。平

成27年にその成果をまとめ、日本薬局方エンドトキシン試験法とおよそ同等の信頼性を確保した方法として、「院内製造PET薬剤用エンドトキシン簡便法（以下、「簡便法」という）」を学会員に向けて発表した^{1,4)}。

簡便法では、局方試験法で求められる、測定試験毎に作成する検量線の代わりに、局方試験法の検量線3本分の計18点のデータを使用して作成した検量線を保存利用することにより、日々の作業負荷やサンプル数を減らすことを特徴の一つとしている。この検量線の保存利用については実は新しい手法ではなく、FDAが1991年に発表している資料⁵⁾において紹介している方法である。ただし、それら保存検量線が日々作成する検量線と同様の性能を有するかどうかについては、ほとんどデータが開示されていない。そこで我々は、標準溶液の真値からの乖離（添加回収率）を利用して、局方試験

法検量線と保存検量線の性能を比較した（図1）。前者では検量線とは別に当日作成した標準溶液を、後者には保存検量線とは別に作成した3日分の標準溶液を使用した。その結果、当日作成した検量線の添加回収率は82.9～119.3%、保存検量線の添加回収率は83.1～117.3%であり、検量線の保存利用は当日作成する検量線と差がないことが分かった。ただし、簡便法では測定試験時と保存検量線作成時で異なるライセートロットを使用しないよう注意が必要である¹⁾。

また簡便法では、保存検量線の利用に加え、測定試験時の検体を、①試験検体 n=2、②反応干渉因子検体 n=1、および、③検量線の中点濃度（0.1EU/mL、括弧内は学会プロトコルでの規定値）検体 n=1 の4検体に低減している。②は局方試験法と同様に、標準溶液③を添加した反応干渉因子検体のエンドトキシン濃度（①のエンドトキ

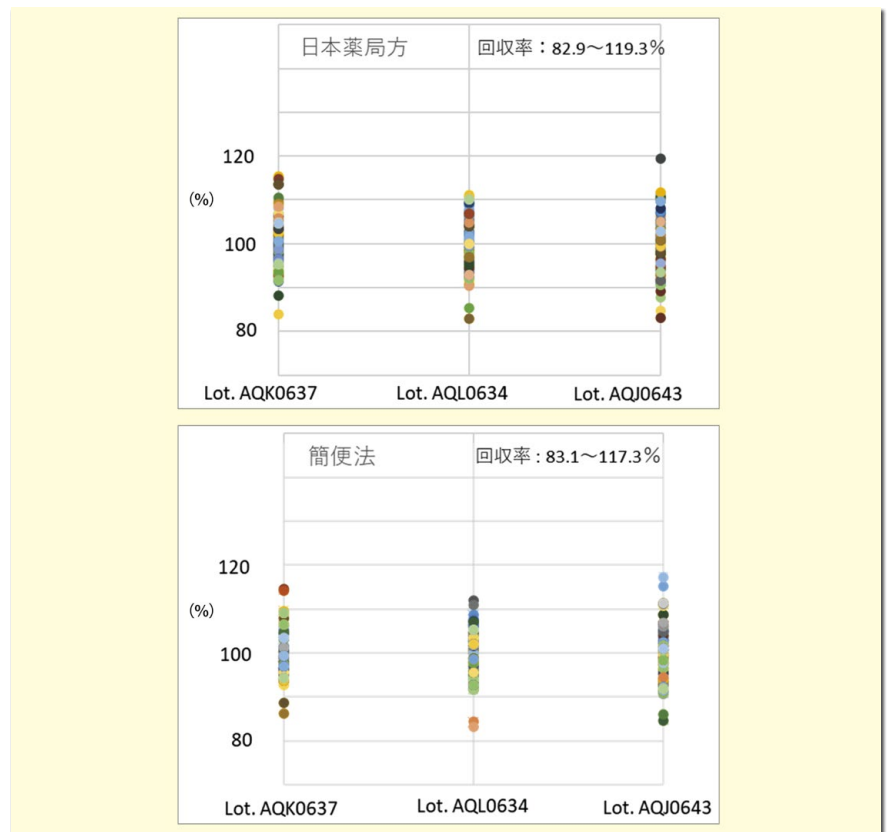


図1. 局方エンドトキシン試験と簡便法の添加回収率

シン濃度を引いた濃度)が標準溶液③の濃度の50~200%(0.05~0.2EU/mL)を示すことを試験成立要件としている。ここで③は簡便法特有の検体となるが、②に添加し反応干渉因子を検討するにあたり、その濃度に試験成立要件となる基準を設定した。局方試験法では一般に、検量線作成時の中点濃度の標準溶液を反応干渉因子検体に添加するが、簡便法では保存検量線作成が測定試験より前の別日になるために検量線作成に使用した中点濃度標準溶液は利用不可能である。そのため、測定試験時に保存検量線の midpoint 濃度になるように作製した③標準溶液を使用せざるを得ないが、③の利用時でも局方試験法と同等の方法で反応干渉因子確認を達成できるよう、その濃度が実際に保存検量線の midpoint 濃度であること(理論値の75~133%(0.075~0.133EU/mL))を測定試験の成立要件とすることとした。

このように簡便法は、簡便さと信頼性を両立した方法であると考えられるが、(1)ライセートロット毎に保存検量線を作成する、(2)測定試験時にエンドトキシン標準品を段階希釈し③を作製し②に使用する、の2点が必要となる。特に(2)は、段階希釈によるエラーや、保存検量線作成時と測定試験時の作業の時間的誤差による試験不成立リスク等の可能性が考えられるため、作業は厳密に実施する必要が

表1. 簡便法とプラスCS法の添加回収試験

方法	回収率 (%)			n
	平均値±標準偏差	最小値	最大値	
簡便法	100.3 ± 6.6	85.8	126.7	112
プラスCS法	95.6 ± 9.2	80.6	115.3	112

ある。

最近、富士フィルム和光純薬から発売された、リムルス ES-II プラス CS シングルテストワコー(以下、プラスCS試薬)は、上記の2点を、(1)検量線がメーカーより提供されること、(2)低含量CSEが添付されていること、で解決を目指したものである。特に低含量CSEによる段階希釈が不要な点は手間と精度の両方にメリットが高いが、一方、低含量による製造時の入れ目のばらつきが原因のエラーが無いことが使用の条件である。この点について、簡便法とプラスCS試薬を使用した方法での添加回収率を評価することで検討した(表1)。その結果、低含量CSEの場合はわずかに真度の低下が感じられる程度の良好な結果が得られており、低含量CSEの利用は希釈回数が少なく手間と誤差を回避できる点で大きなメリットがあると予想された⁶⁾。


簡便法やプラスCS試薬を使用した方法は、現状では局方エンドトキシン試験と同様に注射剤の規格試験にすぐに採用することはできないが、院内製剤や医薬品・医療機器製造時の工程管理、原材料のエンドトキシン限度試験

などに適用することで、コスト削減とデータの信頼性の両立が可能となる。採用にあたって詳細なデータや試験プロトコルなどが必要な場合は、筆者あるいは富士フィルム和光純薬までお問い合わせいただければ幸いです。

【参考文献】

- 1) 脇厚生、森哲也、西嶋剣一、本城和義、萱野勇一郎、矢野良一、白石浩巳、高岡文、清野泰、藤林靖久:核医学, **50**, 289 (2013).
- 2) 脇厚生、森哲也、西嶋剣一、本城和義、萱野勇一郎、矢野良一、白石浩巳、高岡文、清野泰、藤林靖久:核医学, **55**, 383 (2014).
- 3) 「院内製造PET薬剤のエンドトキシン試験を適切に実施するために-局方と同等の信頼性を確保しうるエンドトキシン簡便法のご紹介-」, 平成27年1月改訂令和元年9月(日本核医学会)(2019). URL: http://jsnm.sakura.ne.jp/wp_jsnm/wp-content/themes/theme_jsnm/doc/endotokishinshiken_190919.pdf (アクセス日: 2020/4/20)
- 4) 日本核医学会:「院内製造PET薬剤のための簡便なエンドトキシン試験試験法 2019/8/20版」(2019).
- 5) FDA: "Interim Guidance for Human and Veterinary Drug Products and Biologicals", *KINETIC LAL TECHNIQUES*, July 15 (1991).
- 6) 脇厚生、岩隈佳寿子、高須賀禎浩、和田正悟、定村佳房: *J. Antibact. Antifung. Agents.*, **47**, 459 (2019).

試薬

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

キット構成: リムルス ES-II シングル試薬 0.2mL 用 × 32本、低含量 CSE × 16本、検量線データシート 1枚

Wako

測定装置

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
299-35181	Toxinometer ET-Mini Wired Set	1台	900,000
296-35191	Toxinometer ET-Mini Wireless Set	1台	950,000





セット構成: トキシノメーター[®] ET-Mini、トキシマスター[®] QC7 for ET-Mini(ソフト)、パソコン、QRコードリーダー

*ワイヤレスセットは上記に無線モジュールが付属します。

詳しくは当社 HP よりご確認下さい。

Wako LAL システム

検索 

 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、2020年7月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

細胞懸濁保存液セルストア[®]S及び細胞洗浄保存液セルストア[®]Wを用いたヒト脂肪由来間葉系幹細胞の保存例

株式会社大塚製薬工場 研究開発センター 鳴門研究所 藤田 泰毅

はじめに

幹細胞治療においては、細胞を懸濁・保存するために、しばしば生理食塩液が用いられているが、細胞生存率の維持や細胞の沈殿の抑制の観点から必ずしも理想的な溶液ではない¹⁾。

我々は、タンパク質や細胞膜の安定化剤、凍害防止剤としての効果が知られているトレハロースに着目し、ヒト脂肪由来間葉系幹細胞 (hADSCs) の5℃及び25℃保存においても有効であることを見出した¹⁾ (特許取得済み)。

また、細胞の保存中に細胞は沈降し濃度の均一性が失われるが、血漿増量剤として臨床使用されているデキストラン40を細胞保存液に添加することにより、細胞保存液の粘度と比重を上昇させ、細胞沈降を抑制することが可能である¹⁾。

これらの成分濃度について検討を行い、細胞懸濁保存液として3%トレハロース及び5%デキストラン添加乳酸リングル液であるセルストア[®]Sを、細胞洗浄保存液として3%トレハロース添加乳酸リングル液であるセルストア[®]Wを開発した¹⁾ (研究用試薬として富士フィルム和光純薬株式会社より販売)。以下に、使用例を記載する。

細胞特性の保存

使用例1. hADSCsの細胞生存率

培養したhADSCsをTrypsin/EDTAを用いて剥離し、セルストア[®]S、セルストア[®]W、乳酸リングル液もしくは市販の冷蔵用保存液に 5×10^5 cells/mLの濃度で懸濁し細胞低吸着遠沈管(ステムフル[®]、住友ベークライト株式会社)に分注した。5℃または25℃の温度条件で静置し、経時的にトリパンブルー染色により細胞生存率を測定した。いずれの温度においても、24時間保存後の細胞生存率は、セルストア[®]S、セルストア[®]Wともに90%以上であった(図1)。セルストア[®]Sにおける細胞生存率は、5℃保存後48時間において保存液B及びCに比して

有意に高く、保存液Aと同様な値であり、25℃保存後6時間から48時間まで乳酸リングル液に比して有意に高かった。セルストア[®]Wにおける細胞生存率は、5℃、24時間において保存液Cに比して有意に高く、保存液A及びBと同様な値であり、25℃において乳酸リングル液に比して6時間で有意に高く、48時間で高い傾向があった。

使用例2. hADSCsのコロニー形成率

hADSCsをセルストア[®]Sまたはセルストア[®]Wに懸濁し、懸濁直後あるいは5℃または25℃で24時間保存後に再播種し、コロニー形成率を評価した。いずれの条件においても、24時間保存後のコロニー形成率は、懸濁直後のコロニー形成率(約20%)に対し有意な差は認められず、hADSCsの増殖能は保存されていると考えられた(図2)。

使用例3. hADSCsの細胞表面抗原陽性率

hADSCsをセルストア[®]Sまたはセルストア[®]Wで懸濁し、懸濁直後あるいは5℃または25℃で24時間保存後に細胞表面マーカーの陽性率を評価した。保存前後において、間葉系幹細胞の陰性マーカー(CD14及びCD45)は5%以下、陽性マーカー(CD73、CD90及びCD105)は90%以上であった¹⁾。

使用例4. hADSCsの脂肪分化能ならびに骨分化能

hADSCsをセルストア[®]Sまたはセルストア[®]Wで懸濁し、懸濁直後あるいは5℃または25℃で24時間保存後に、脂肪細胞あるいは骨芽細胞への分化誘導を行ったところ、それぞれオイルレッド染色による油滴の確認により脂肪分化能が、アルカリホスファターゼ染色及びアリザリンレッドS染色による石灰化の確認により骨分化能が

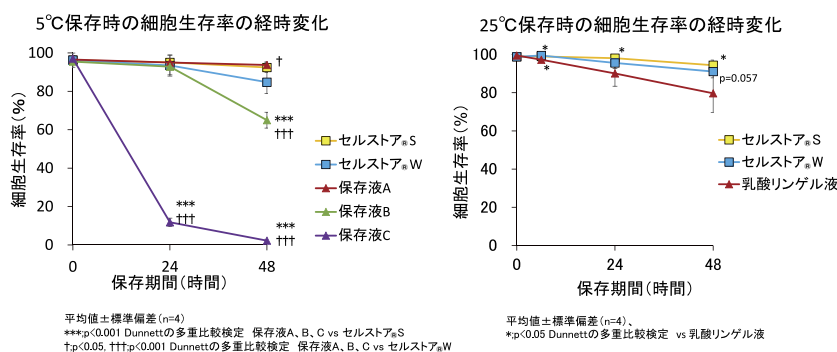


図1. 5℃あるいは25℃保存時の細胞生存率の経時変化

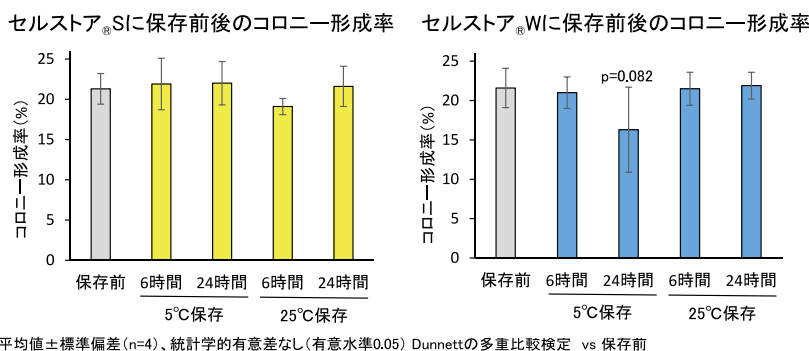


図2. コロニー形成率の確認

保存されていることを確認した¹⁾。

◆細胞濃度の均一性維持

hADSCs をセルストア[®]S あるいは生理食塩液に 1.5×10^5 cells/mL の濃度で懸濁し 100mL を血液バッグに入れスタンドに吊るし、1時間静置した後に、輸血セットから 3.3mL/min の速度で排出させ、5mL ずつ細胞低吸着遠沈管に回収した。最悪のケースを想定して、1時間静置後に攪拌はせず、滴下が半分終了した 10 本目の回収後にバッグを手で揉み攪拌した。血液バッグからの排出ライン中の細胞濃度は、生理食塩液に比してセルストア[®]S では、より安定することを確認した¹⁾ (図 3)。

◆結語

セルストア[®]S 及びセルストア[®]W は、5℃または 25℃の温度条件で少なくとも 24 時間、hADSCs の細胞特性を保持した。また、セルストア[®]S は、少なくとも 1 時間、細胞濃度の均一性を維持した。ただし、保存可能時間は、使用する細胞の種類や状態、保存条件によって異なるため、使用する細胞での確認試験が必要となる。

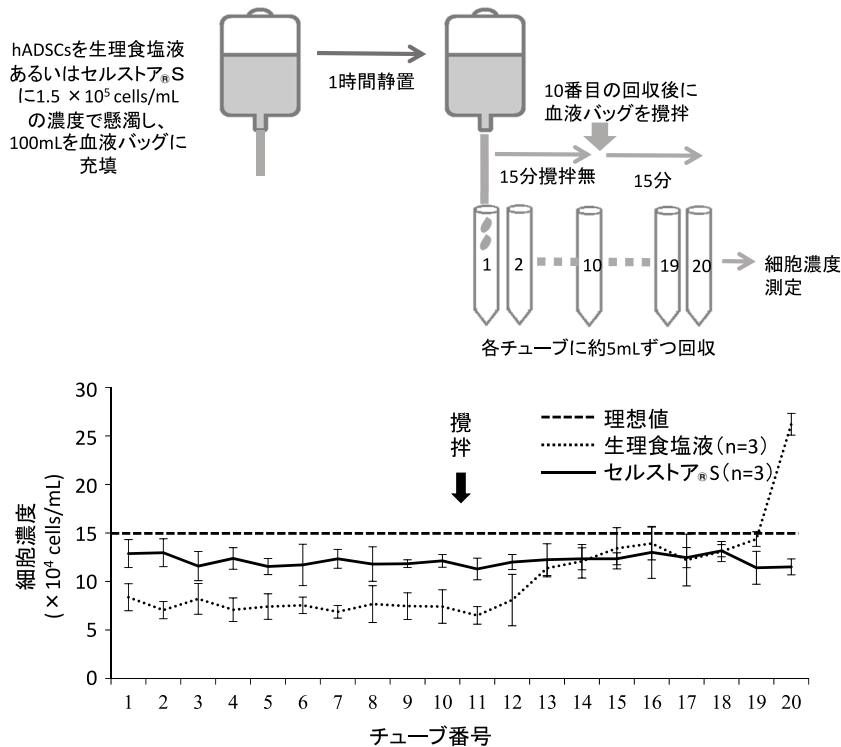


図 3. 血液バッグから排出される細胞濃度の経時変化
各チューブの細胞濃度について、平均値±標準偏差を示した。

本品は、間葉系幹細胞等の基礎研究に貢献するとともに、再生医療等製品への応用につながるものと期待している。

【参考文献】

1) Fujita, Y, et al.: *Regen. Ther.*, **14**, 95 (2020).

セルストア[®]S セルストア[®]W

Otsuka
株式会社大塚製薬工場

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
637-46391	セルストア [®] S	250mL	52,500
630-46401	セルストア [®] W	250mL	52,500

その他のアプリケーションデータを当社 HP にてご紹介していますので、ご参照下さい。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01692.html>



☐₂…2~10℃保存 ☐_F…-20℃保存 ☐₈₀…-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、2020年7月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

第1回 Stilla社 Naica System を用いたデジタル PCR による超微量ウイルスDNAの定量解析の一例

熊本大学 ヒトレトロウイルス学共同研究センター 佐藤 賢文

はじめに

ヒト免疫不全症ウイルス (human immunodeficiency virus type 1 : HIV-1) は世界に 3,000 万人超、日本に約 3 万人の感染者がいる。このウイルスに感染した人は、適切な治療を受けなければ、その名前の通り後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS, エイズ) を引き起こし、免疫不全症による重篤な感染症や悪性腫瘍によって致死的な状態となる。

近年の抗ウイルス薬の進歩によって、HIV-1 感染者体内におけるウイルス複製を極めて効率的にブロックすることが可能となり、適切な治療を受けることが出来ればエイズ発症を阻止することが出来るようになってきた。しかしながら、抗ウイルス薬による治療でも感染者体内からウイルスを完全に排除させることは極めて困難で、薬剤を中止すると再び高いレベルのウイルス血症を示すようになり、それが続けばエイズを発症してしまう。したがって、感染者はほぼ一生の長期にわたる服薬を余儀なくされている状況にある。

そのような中、治療下で残存するウイルスリザーバを減少させることで、休薬してもウイルスが再活性化せずにコントロール出来る状態、更にはウイルス排除を目指した様々な研究が世界的に展開されている。ところが、ウイルスリザーバが感染者体内でどのように成立し、そして維持されているのか、まだまだ不明な点が多く残されており、ウイルスリザーバを減少させる有効な治療法は確立出来ていない。

ウイルスリザーバの評価方法

その HIV-1 ウイルスリザーバ研究において、大きな技術的障壁となっているのが、そのリザーバサイズが極めて小さいという問題である。抗ウイルス薬を受けている感染者や感染動物モデルにおいては、血中のウイルス量

は検出限界以下となる。そのような状況でウイルスリザーバの評価はどのようになされるのであろうか？

レトロウイルスの生活環を考えると、抗ウイルス薬投与下の感染者においては、ウイルス複製サイクルは薬によって遮断される。しかしそのような状況下でも、宿主ゲノム内に組み込まれた HIV-1 プロウイルス DNA は宿主細胞が生存する限り残存し、ウイルスリザーバの原因となる。そのウイルスリザーバの 1 つの様式である宿主細胞ゲノムに組み込まれたプロウイルス DNA を定量することが、ウイルスリザーバ定量の 1 つの方向性と考えられている。

定量的 PCR とデジタル PCR

では、HIV-1 のプロウイルス DNA はどのように定量されるのであろうか？

これまででは、ウイルスの特定の領域を標的とした PCR 反応による定量的 PCR (quantitative PCR : qPCR) で DNA コピー数を定量することが行われてきた¹⁾。我々の研究グループでも、長期間抗ウイルス療法を受けた日本の感染者での末梢血液中プロウイルス DNA 量の推移を qPCR で定量し、報告してきた²⁾。qPCR の原理は PCR サイクル数とその産物の生成速度をもって、試料中に含まれる鋳型の DNA 量を推計することである。PCR 反応の原理から考えると 2 倍の DNA 量の差

があれば、PCR サイクル数が 1 サイクル分異なることになる。qPCR は理論上定量的であるものの、PCR 増幅効率や増幅の立ち上がりなどが必ずしも 100% でないことなど、その定量性を低下させる要因がいくつか知られている。従って、極めて微量の DNA 定量や、微妙な量的差異を検出する場面においては、難点があるとされる。

そのような中で登場してきたのが、デジタル PCR といわれる方法である。デジタル PCR は、PCR を数千個から数万個の個別のコンパートメントに分けて反応させることで、サンプル中の鋳型 DNA 量を絶対定量するものである。最近我々の研究室で導入した、Stilla 社 Naica System を用いたプロウイルス DNA 定量の例を紹介する。

HIV-1 DNA 定量の実際

前述のように、以前は我々の研究室でも qPCR による HIV-1 DNA の定量を行ってきた。図 1 にその例を示すが、qPCR の方法では標的 DNA が少ない検体の時は増幅してくるサイクル数が 30 サイクルを大きく超えてしまい、陰性コントロールでもしばしば認める非特異的な増殖と近いパターンを示す (図 1)。抗ウイルス治療中の HIV-1 患者の末梢血液リンパ球中感染細胞は 0.1% 以下であり、その微量のウイルス DNA を定量することは容易ではない。

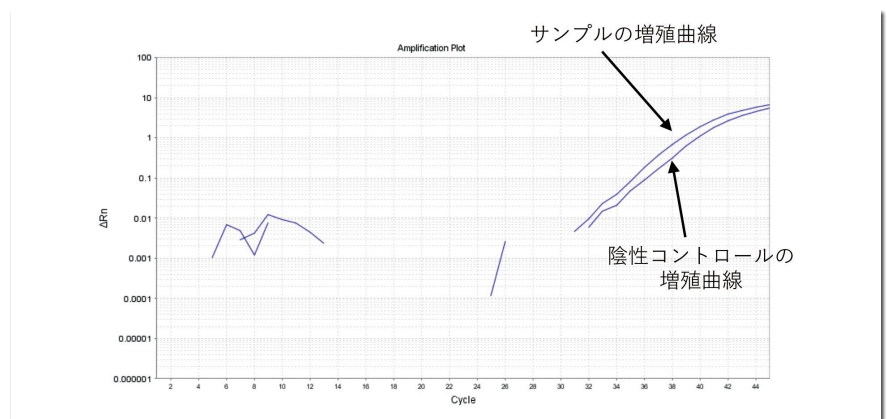


図 1. HIV-1DNA を定量する qPCR の一例

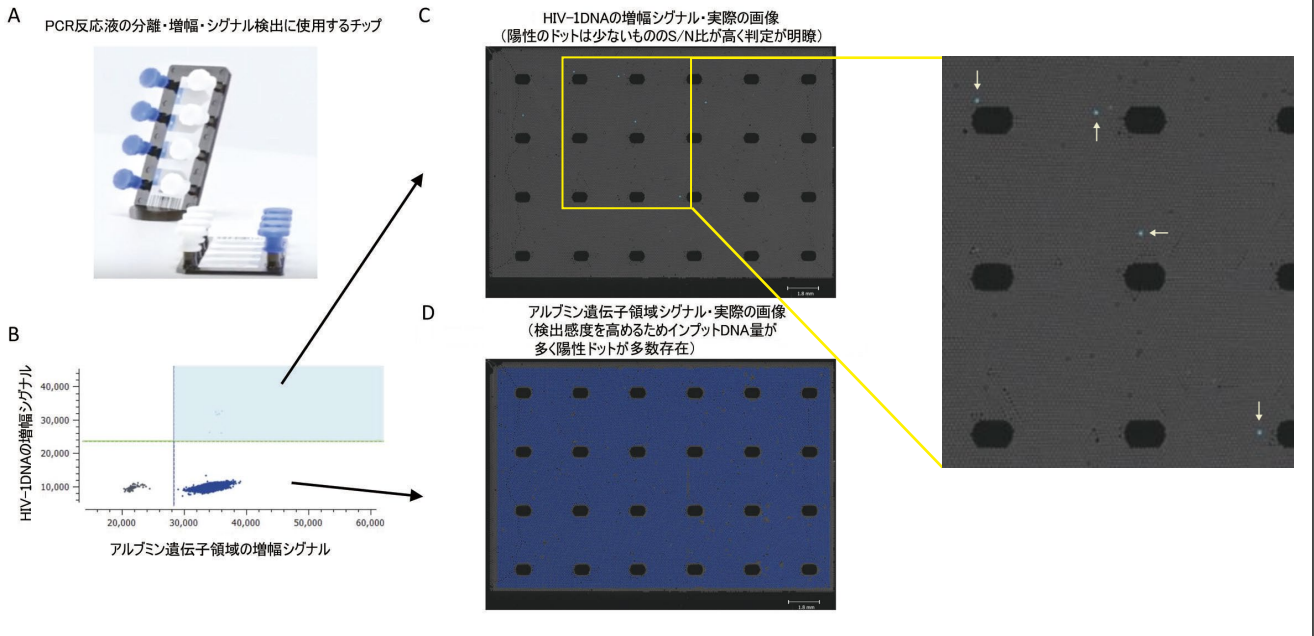


図2. Stilla 社 Naica System による HIV-1DNA 定量の 1 例

従って、現在では多くのウイルス研究者が正確な定量のためにデジタル PCR を導入しており、我々の研究室でも今は qPCR ではなくデジタル PCR で HIV-1 の DNA 定量を行っている³⁾。図2に Stilla 社のクリスタル PCR の実際の解析例を示すが、HIV-1 感染者の微量のウイルス DNA が増幅された陽性のドットが低頻度であるが、はっきりと検出されているのが分かる (図2B)。この大きな S/N 比 (signal-noise ratio) を示す点において、デジタル PCR は qPCR に比べて優れており、微量な標的 DNA を正確に定量することが可能となる。また、Stilla 社のクリスタル PCR は増幅反応後の蛍光シグナル検出画像を直接確認することが出来る利点がある (図2C, D)。

今後の展開

Stilla 社のクリスタル PCR 装置は 3

つの蛍光を同時に検出することが可能であり、ウイルスの複数の領域を増幅することで、ウイルスの欠損度合いなど質的な情報も取得出来ると考えられる⁴⁾。また、図2C, D に示した増幅反応後のドロップを回収することが出来るため、陽性ドロップから DNA ライブラリーを作製して、そこに含まれる DNA の配列を網羅的に調べることも不可能ではない。

このように、クリスタル PCR 装置は、高精度な DNA 定量ももちろんであるが、増幅後のアプリケーションにも応用出来る可能性を含んでおり、今後の様々な研究の場での活用が期待される。

【参考文献】

- 1) Douek, D. C., Brenchley, J. M., Betts, M. R., Ambrozak, D. R., Hill, B. J., Okamoto, Y. *et al.* : *Nature*, **417** (6884), 95 (2002).
- 2) Stanoeva, K. R., Konig, A., Fukuda, A., Kawanami, Y., Kuwata, T., Satou, Y. *et al.* : *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.*, **78** (2), 239 (2018).

- 3) Iwase, S. C., Miyazato, P., Katsuya, H., Islam, S., Yang, B. T. J., Ito, J. *et al.* : *Sci. Rep.*, **9** (1), 12326 (2019).
- 4) Bruner, K. M., Wang, Z., Simonetti, F. R., Bender, A. M., Kwon, K. J., Sengupta, S. *et al.* : *Nature*, **566** (7742), 120 (2019).

— シリーズ開始にあたって —

「遺伝子解析 新技術とその応用」は、遺伝子研究分野における新しい研究手法を研究者ご自身にご紹介頂く全4回 (予定) のシリーズです。

1953年にDNAの二重らせん構造が提唱され、2003年にヒトゲノム配列の解読が完了しました。その後、ポストゲノム時代に入り、個々の遺伝子の機能を解析する研究が盛んになりました。その過程において、遺伝子解析手法は、驚くほど進化を遂げ、現在も新たな手法が生まれ続けています。

本シリーズでご紹介する新たな研究手法が読者の皆様のご研究の一助になりましたら幸いです。

3カラーデジタルPCR Stilla 社 ナイカシステム 本誌 23 ページにて製品をご紹介します。是非、ご覧下さい。

☐—2~10℃保存 ☐—20℃保存 ☐—80℃保存 ☐—150℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。掲載内容は、2020年7月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

第1回 神経障害性疼痛

九州大学大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野 津田 誠

「マイクログリア研究の最前線—基礎から臨床へ—」シリーズ開始にあたって

九州大学大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野 津田 誠

マイクログリアが発見されてから100年という節目の年に第35回Wakoワークショップ「マイクログリア研究の最前線—基礎から臨床へ—」(2019年11月)が開催され、このたび和光純薬時報のレビューシリーズとして、マイクログリア研究の最前線を連載する好機を頂いた。グリア(glia; 英語ではglue)はその名が示すように、かつては神経と神経の間を埋める糊のような物質(neuroglia)とされていたが、最近の基礎研究から、グリアが神経活動に大きく影響を及ぼす重要な細胞であることが次々と示されている。特に、マイクログリアは、現代医療でも依然克服困難な神経疾患において重要な役割を有していることが明らかにされてきており、マイクログリアを切り口とした疾患メカニズムの解明や診断・治療法の開発への期待が一層高まっている。本シリーズでは、マイクログリアが重要な神経系疾患としてアルツハイマー病、てんかん、脳梗塞、精神疾患、慢性疼痛などを取り上げ、我が国の気鋭の先生方にその最新知見と展望をご紹介頂く。どうぞご期待ください。

はじめに

生体に有害な刺激が加わった場合、私たちは痛覚システムを利用し、痛みを発生させ、それに対し適切な防御的行動をとる。しかし、末期癌や糖尿病、脳梗塞、脊髄損傷、帯状疱疹治癒後などで神経系に損傷や圧迫、機能不全が起ると、神経障害性疼痛と呼ばれる慢性的な痛みとなってしまう。症状として、自発痛や疼痛過敏、そして触刺激など通常は痛みが起らないような刺激で痛みが起るアロディニア(異痛症)が知られている。これらの痛みは、生体防御としての痛覚信号が持続的に発生するためという単純なものではなく、アロディニアのような感覚モダリティーそのものが変化する症状からもわかるように、体性感覚情報伝達系の機能破たんが原因と考えられている。末梢組織→一次求心性神経→脊髄後角→脳という一連の神経伝達系において、どのような仕組みで異常が起こるのか、そのメカニズムはまだ解明されていない。本稿では、脊髄と脳に生じる痛覚伝達異常にマイクログリアが重要な役割を担うことを概説し、そこから見えてきた神経障害性疼痛メカニズムと今後の展望について紹介する。

マイクログリア

マイクログリアは中枢神経系を構成す

るグリア細胞の一つである。成体でのマイクログリアは、小さな細胞体に複数の細かく枝分かれした突起をもつ形態で存在している(図1)。脳マイクログリアの生体イメージング解析により、マイクログリアはその突起を常に動かし、シナプス活動や細胞障害に応答するといった、時空間的に非常にダイナミックな活動性を有することが示されている¹⁾。

マイクログリアの発生起源は、2010年以降のfate-mapping研究から、胎生期卵黄嚢に存在する前駆細胞とされ、それが血流を介して脳へ移動しマイクログリアに分化・成熟することが明らかになり²⁾、現在では、マイクログリア

は中枢神経系の組織常在性マクロファージに分類されている。成体でのマイクログリアの維持には、従来の骨髄細胞供給説ではなく、自己複製維持説が想定されている。その詳細はまだ不明だが、コロニー刺激因子1受容体(CSF1R)の欠損³⁾や阻害薬処置⁴⁾、インターロイキン-34(IL-34)の欠損⁵⁾でマイクログリア数が減少あるいは消失することから、これらが維持に重要なシグナルであろう。

脊髄後角マイクログリア

神経障害性疼痛の基礎研究では、末梢神経(主に坐骨神経や腰部脊髄神経)を直接損傷した動物モデルなどが

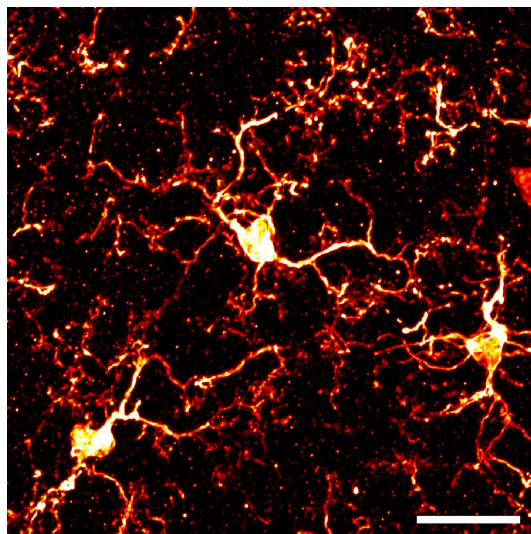


図1. 正常状態のマイクログリア(脊髄後角)
IBA1抗体による免疫組織染色画像。スケールバー:50 μ m。

本シリーズの企画・構成に際し、九州大学大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野 津田 誠先生にご協力頂きました。

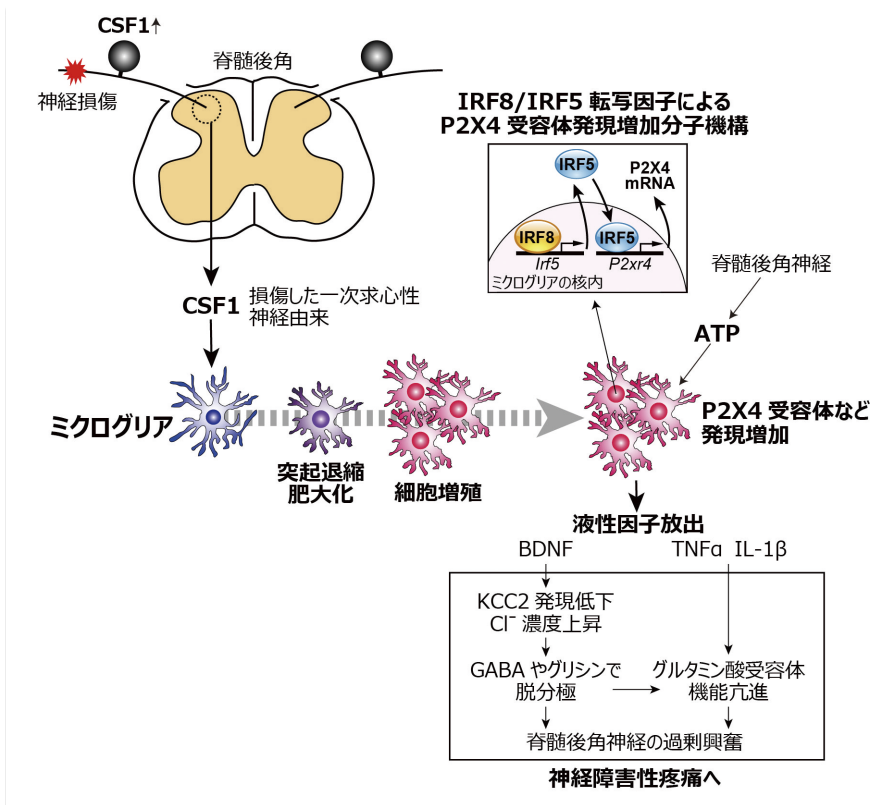


図2. 脊髄後角でのミクログリアの活性化と神経機能変調メカニズム

損傷した一次求心性神経で発現増加したCSF1が脊髄後角ミクログリアのCSF1受容体に作用し、形態変化、細胞増殖、遺伝子発現を伴い活性化状態となる。P2X4受容体は、IRF8-IRF5転写因子カスケードを介し発現増加する。脊髄後角介在神経から放出されたATPがP2X4受容体を刺激し、ミクログリアから液性因子が放出される。BDNFはKCC2の発現低下を介して細胞内Cl⁻濃度を高め、GABAやグリシンの作用を興奮性へと転換させる。その神経興奮やTNFαやIL-1βはグルタミン酸受容体の機能を亢進させ、脊髄後角神経の過剰興奮を引き起こし、神経障害性疼痛へと繋がる。

利用される。1970年代に坐骨神経の切断によって脊髄後角のミクログリアが活性化することが報告され、その後1990年代に神経障害性疼痛とミクログリアとの相関性が示され、2003年に初めてその両者間の因果性が明らかにされた⁶⁾。それ以降、神経障害性疼痛メカニズムとしてミクログリアが世界的に注目され、現在まで盛んに研究されている。以下にこれまでに明らかになった分子細胞メカニズムを概説する。

〈ミクログリアの活性化メカニズム〉

末梢神経損傷により脊髄後角のミクログリアは細胞体の肥大化や突起の退縮、そして急激な細胞数の増加など、劇的な細胞応答を示す⁷⁾。細胞数の増加には、ミクログリア自身の細胞分裂による自己増殖が関与する。その分子メカニズムとして、損傷神経でデュアルロイシンジッパーキナーゼ (DLK) 依存的に発現増加したCSF1が、神経軸索を介して脊髄後角に運ばれ、ミク

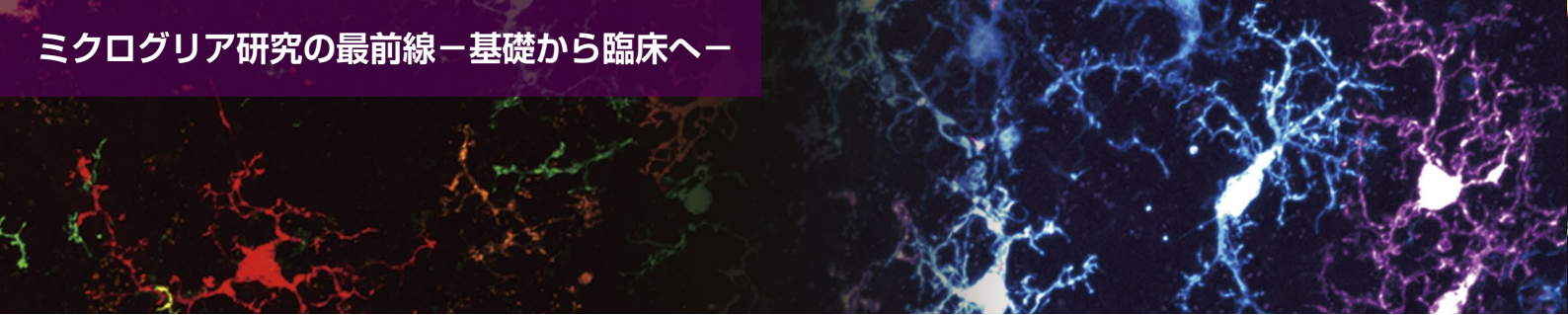
ログリアのCSF1Rに作用するという仮説が有力である^{8,9)}(図2)。一方で、血液脳関門の破たんを伴う疾患モデルの脳や脊髄では、末梢血由来の単球/マクロファージの浸潤が見られる。神経障害性疼痛モデルでも神経損傷後一時的に血液脊髄関門の機能が低下するが、末梢血由来単球の脊髄後角内浸潤は見られない¹⁰⁾。

〈活性化ミクログリアによる感覚伝達の変調メカニズム〉

活性化したミクログリアはエピゲノムレベルで変化し¹¹⁾、細胞膜受容体や細胞内リン酸化酵素、液性因子など様々な遺伝子発現を介して機能的に活性化する⁶⁾。その代表的な分子として、ATPなどの細胞外ヌクレオチドに対する受容体 (P2受容体) が挙げられる。神経損傷後の脊髄では主にイオンチャネル型のP2X4やP2X7受容体、Gタンパク質共役型のP2Y12受容体の発現がミクログリア特異的に増加し、その機能や発現の阻害でアロディ

ニアが著明に抑制される^{6,12)}。P2X4受容体の発現増加は、転写因子IRF8とIRF5で誘導される^{13,14)}。同受容体は、脊髄後角介在神経から放出されるATPで活性化し¹⁵⁾、脳由来神経栄養因子 (BDNF) などの液性因子を産生放出する。それが脳へ痛覚情報を伝達する脊髄後角神経のKCC2の発現を低下させ、細胞内外のCl⁻濃度勾配を乱し、GABAやグリシンの作用を興奮性に転じさせ¹⁶⁾、それがNMDA受容体の活性化も導き、最終的に同神経の異常興奮を引き起こす(図2)⁶⁾。

ミクログリアは脳や脊髄における炎症性サイトカインの主要な産生細胞である。IL-1βは、TREM2/DAP12やtoll様受容体 (TLR)、NLRP3インフラマソームを介し産生され、脊髄後角神経でグルタミン酸受容体機能を亢進、GABA受容体やグリシン受容体機能を抑制する⁶⁾。TNFαはミクログリア選択的に発現し、脊髄後角神経への直接作用に加え、アストロサイトや血管



内皮細胞への間接作用を介して神経の興奮性を高める。また、TNF α はマイクログリアへ作用してBDNFの発現を高め、痛覚伝達神経のスパイン構造やシナプス結合の増加を起こす¹⁷⁾。さらに、マイクログリアが放出する血小板活性化因子 (PAF) は、オートクライムのマイクログリアのPAF受容体を刺激しPAF産生を誘導するというポジティブループを形成し、神経障害性疼痛に関与する¹⁸⁾。

脳マイクログリア

脊髄後角のマイクログリアと比較すると形態学的変化は劇的ではないものの、末梢神経損傷時に複数の脳部位でマイクログリアが活性化することが報告されている。報酬系を司る腹側被蓋野で活性化したマイクログリアは中脳辺縁系ドパミン神経機能と報酬系の低下に関与し¹⁹⁾、海馬のマイクログリアはCA1錐体神経のスパイン密度、シナプス伝達、BDNF発現レベル、記憶の低下に関与する¹⁷⁾。一方、扁桃体中心核では、神経損傷4週間後という比較的遅い時期に末梢血由来の単球/マクロファージが浸潤し、それがNMDA受容体のリン酸化と不安行動に関与する²⁰⁾。したがって、脳で活性化したマイクログリアは、神経障害性疼痛の情動や記憶などに関与すると思われる。

治療と診断への展開

P2X4受容体を含めマイクログリア発現分子をターゲットにした化合物や抗

体が複数開発され、いずれも非臨床試験でその有効性が報告された^{6, 21)}。神経障害性疼痛患者を対象とした臨床試験においてもその有効性が示されることを期待したい。

ヒトの脳や脊髄でのマイクログリアイメージング技術は、創薬や治療、さらに診断にも応用できる。マイクログリアの生検は極めて困難であるが、九州大学の加藤隆弘らの研究グループは、線維筋痛症患者の末梢血中の単球から分化させたマイクログリア様細胞 (iMG細胞) ではTNF α 放出能が高く、それが痛みと相関していることを見出した²²⁾。今後の更なる研究から、iMGが慢性疼痛の診断や治療に応用できる可能性が期待される。

おわりに

現在までの十数年間で蓄積された数多くの研究成果から、神経障害性疼痛の発症には、神経だけでなく、神経障害に伴って脊髄後角や脳で活性化するマイクログリアの重要性が分かってきた⁶⁾。また、アストロサイトも神経障害性疼痛に寄与していることが示されている (他の総説²³⁾ などをご参照いただきたい)。これまでグリア細胞は神経を単に支持する細胞とされてきたが、これらの成果は、グリア細胞の活動が神経機能に大きな影響を及ぼすという重要な例を示しており、神経障害性疼痛メカニズムや中枢神経機能の理解には、神経とグリアの相互作用という視点が大切である。一方、近年の1細胞解析

から示されたマイクログリアのヘテロジェナイティーが神経障害後にどのように崩れ、それが慢性疼痛にどのような意味を持つのかは全く分かっておらず、これからの重要な課題である。今後、マイクログリアサブセットの役割や神経との相互作用などを明らかにすることで、神経障害性疼痛メカニズムの解明と治療薬の開発に繋がる重要な道筋が拓けることと思われる。

【参考文献】

- 1) Wake, H. et al. : *Trends Neurosci.*, **36**, 209 (2013).
- 2) Prinz, M. et al. : *Cell*, **179**, 292 (2019).
- 3) Erbllich, B. et al. : *PLoS One*, **6**, e26317 (2011).
- 4) Elmore, M. R. et al. : *Neuron*, **82**, 380 (2014).
- 5) Wang, Y. et al. : *Nat. Immunol.*, **13**, 753 (2012).
- 6) Inoue, K. and Tsuda, M. : *Nat. Rev. Neurosci.*, **19**, 138 (2018).
- 7) Kohno, K. et al. : *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 1096 (2018).
- 8) Guan, Z. et al. : *Nat. Neurosci.*, **19**, 94 (2016).
- 9) Wlaschin, J. J. et al. : *Elife*, **7**, (2018).
- 10) Tashima, R. et al. : *Sci. Rep.*, **6**, 23701 (2016).
- 11) Denk, F. et al. : *Cell Rep.*, **15**, 1771 (2016).
- 12) Tsuda, M. et al. : *Nature*, **424**, 778 (2003).
- 13) Masuda, T. et al. : *Cell Rep.*, **1**, 334 (2012).
- 14) Masuda, T. et al. : *Nat. Commun.*, **5**, 3771 (2014).
- 15) Masuda, T. et al. : *Nat. Commun.*, **7**, 12529 (2016).
- 16) Coull, J. A. et al. : *Nature*, **438**, 1017 (2005).
- 17) Liu, Y. et al. : *J. Neurosci.*, **37**, 871 (2017).
- 18) Shindou, H. et al. : *Faseb J.*, **31**, 2973 (2017).
- 19) Taylor, A. M. et al. : *J. Neurosci.*, **35**, 8442 (2015).
- 20) Sawada, A. et al. : *Pain*, **155**, 1762 (2014).
- 21) Williams, W. A. et al. : *Pain*, **160**, 1989 (2019).
- 22) Ohgidani, M. et al. : *Sci. Rep.*, **7**, 11882 (2017).
- 23) Ji, R. R. et al. : *Nat. Rev. Neurosci.*, **20**, 667 (2019).

マイクログリアマーカー

抗 Iba1, ウサギ抗体 (免疫細胞化学用)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-19741	Anti Iba1, Rabbit (for Immunocytochemistry)	E ⁺ 免疫化学用	50 μ g	40,000

当社HPにて多数マイクログリアマーカー抗体をご紹介します。ご参照下さい。

試薬事業トップ→ライフサイエンス→抗体製品→神経関連抗体→マイクログリアマーカー抗体

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01852.html>

また、本誌17ページにて蛍光色素標識Iba1抗体もご紹介しています。併せてご覧下さい。

Wako

☑…2~10℃保存 E⁺…-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、2020年7月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

神経疾患研究に

Mature BDNF ELISA キットワコー

Wako

BDNF(Brain-derived Neurotrophic Factor、脳由来神経栄養因子)はNGF(Nerve Growth Factor、神経成長因子)ファミリーに属しており、神経発生・神経保護作用・シナプス形成などに関与し、脳内で重要な役割を担うことが知られています。そのことから、うつ病をはじめとした精神疾患マーカーとなることが期待されています。さらに、神経疾患のみならず、心不全などの心疾患にも関連することが報告されており、幅広い分野で研究のターゲットとなっています。

また、BDNFには前駆体であるproBDNFが存在し、BDNFとは異なる作用を有することが報告されています。そして、proBDNFが切断されることでBDNF(Mature BDNF)になります。

本品はMature BDNFを特異的に検出するELISAキットです。

特長

- 少量検体で測定可能
- 高感度
- Mature BDNFを特異的に検出

性能

検量線範囲	4.1 ~ 1,000pg/mL
測定対象 ^{*1}	Mature BDNF
測定対象検体 ^{*2}	血清(ヒト)、血漿(ヒト)、脳ライセート(マウス)
必要検体量 ^{*3}	ヒト血清 5 μ L、ヒト血漿 10 μ L
測定時間	4時間
検出法	発色
proBDNFとの交差性	約10%

※1 ヒト、マウス、ラットのMature BDNFを認識する抗体を用いています。

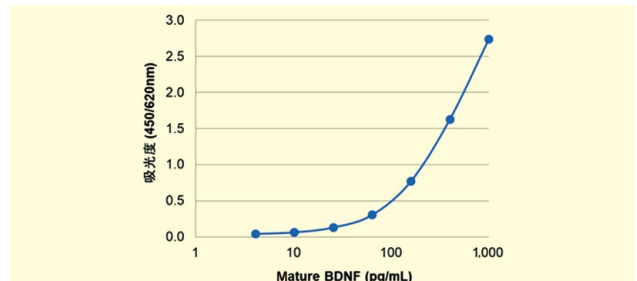
※2 実績のある検体です。他の検体、動物種については実績がありません。

※3 ヒト血清20倍希釈、ヒト血漿10倍希釈時

キット内容

- 抗体固相化プレート 1プレート (96 wells (8 × 12))
- Mature BDNF 標準品 1本
- 緩衝液 60mL × 1本
- ビオチン結合抗体溶液 100 μ L × 1本
- ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン溶液 100 μ L × 1本
- TMB 溶液 6mL × 1本
- 反応停止液 6mL × 1本
- 洗浄液 (10 ×) 50mL × 1本
- プレートシール 4枚

検量線(例)



データ

proBDNFの交差率

	本品	A社同等品	B社同等品	C社同等品
proBDNF 交差率	約10%	約10%	約15%	約50%
感度(検量線下限値)	4.1pg/mL	62.5pg/mL	15.6pg/mL	15.0pg/mL

臨床検体での測定

健常者 (n=6)

No.	性別	年齢	測定値 (ng/mL)
1	F	48	14.5
2	F	50	22.8
3	F	54	20.0
4	F	47	18.5
5	F	42	13.8
6	F	60	19.1

本キットで精神疾患患者(大うつ病、躁うつ病、統合失調症)及び健常者の血清中mBDNFを測定した。

大うつ病 (n=5)

No.	性別	年齢	測定値 (ng/mL)
1	F	59	26.2
2	F	51	20.9
3	F	48	13.2
4	F	33	8.88
5	F	37	11.1

躁うつ病 (n=4)

No.	性別	年齢	測定値 (ng/mL)
1	F	46	16.5
2	F	52	20.9
3	F	52	11.5
4	F	52	11.5

統合失調症 (n=4)

No.	性別	年齢	測定値 (ng/mL)
1	F	36	17.9
2	F	53	23.0
3	F	55	14.6
4	F	51	10.8

健常者	大うつ病	躁うつ病	統合失調症
18.1 ± 3.41	16.1 ± 7.26	15.1 ± 4.53	16.6 ± 5.17

(ng/mL)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-83201	Mature BDNF ELISA Kit Wako	免疫化学用	96回用	69,000

エクソソーム解析に

抗CD81, ラットモノクローナル抗体 (9B), ビオチン結合

Wako

CD81は、26kDaの細胞表面タンパク質で、TAPA-1や Tetraspanin-28とも呼ばれており、IGSF8 (CD316) 及び CD36と直接相互作用すること、B細胞表面上のCD19、CD21及びLeu-13 (CD225)とシグナル伝達複合体を形成すること、さらに、T細胞上では、CD4やCD8と関連し、CD3と共刺激を与えることが報告されています。また、細胞外小胞のマーカータンパク質の1つとしても知られています。

本品はCD81に対して樹立したラットモノクローナル抗体のビオチン標識品です。ELISA、ウエスタンブロット及び免疫沈降などのアプリケーションにご使用頂けます。細胞外小胞の解析にご利用下さい。

特長

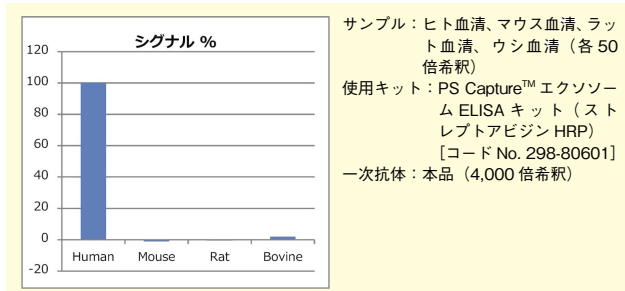
- ヒト CD81 に高特異的
- ウシ CD81 への低い交差性

製品概要

Buffer 組成	1 × TBS, 50w/v%グリセロール, 0.05w/v%アジ化ナトリウム
クローン No.	9B
免疫動物	ラット
抗体サブクラス	IgG2b
交差性	ヒト CD81 マウス・ラット CD81 に反応しない。 ウシ CD81 にごくわずかに反応する。
アプリケーション	ELISA 1:2,000-1:16,000 ウエスタンブロット (非還元状態) 1:1,000-1:8,000 免疫沈降 5-20 µg/assay

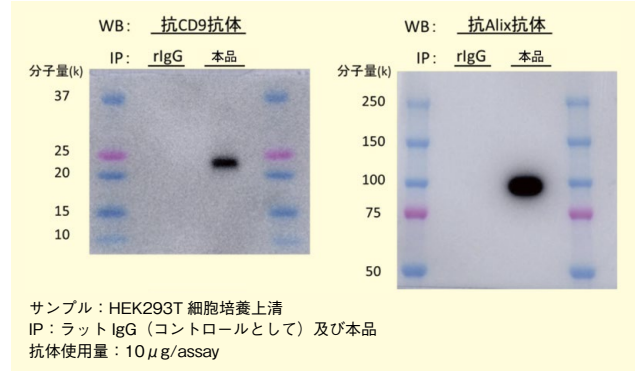
データ

交差性



ヒト、マウス、ラット及びウシ血清をサンプルとして使用し、本品を当社 ELISA キットの一次抗体に使用した。ヒト血清に対するシグナルを 100%とし、各動物種血清への反応性相対値を求めた。マウス、ラットに反応せずウシにごくわずかに反応することを確認した。

免疫沈降



本品を使用した免疫沈降法によって回収したサンプルには CD9 及び Alix が含有され、一方、ラット IgG を使用したサンプルにはこれらのマーカータンパク質が検出されなかった。CD81、CD9 及び Alix を共通で保有する因子が本品により回収されることが示された。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
011-28111	Anti CD81, Rat Monoclonal Antibody (9B), Biotin-conjugated	免疫化学用	50µL	49,500

関連製品

種間交差性一覧

抗原名 (クローン No.)	ヒト	マウス	ラット	ウシ
CD9 (1K)	++	-	+	++
CD9 (30B)	++	-	±	-
CD63 (3-13)	++	-	-	-
CD81 (17B1)	++	-	-	++
CD81 (9B)	++	-	-	±

++: 反応する。 +: 弱く反応する。

±: わずか〜ごくわずかに反応する。 -: 全く反応しない。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
未標識抗体				
014-27763	Anti CD9, Monoclonal Antibody (1K)	免疫化学用	100µL	30,000
012-27063	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13)	免疫化学用	100µL	30,000
011-27773	Anti CD81, Monoclonal Antibody (17B1)	免疫化学用	100µL	30,000
ビオチン標識抗体				
013-27951	Anti CD9, Rat Monoclonal Antibody (30B), Biotin Conjugated	免疫化学用	20µL	12,000
019-27953	Anti CD9, Rat Monoclonal Antibody (30B), Biotin Conjugated	免疫化学用	100µL	40,000
013-27711	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Biotin Conjugated	免疫化学用	20µL	12,000
019-27713	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Biotin Conjugated	免疫化学用	100µL	40,000
蛍光標識抗体				
018-27641	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Fluorescein Conjugated	免疫化学用	25回用	13,000
014-27643	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Fluorescein Conjugated	免疫化学用	100回用	45,000
011-27751	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Red Fluorochrome (635) Conjugated	免疫化学用	25回用	13,000
017-27753	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13), Red Fluorochrome (635) Conjugated	免疫化学用	100回用	45,000

Refrigerated (2~10°C) storage, Frozen (-20°C) storage, Deep frozen (-80°C) storage, Ultra-deep frozen (-150°C) storage. Indicated when not shown is room temperature storage. For other abbreviations, please refer to the back cover. The content is based on information as of July 2020. For the latest information, please refer to our HP.

マイクログリアマーカー

SPICA Dye™ 568 標識 抗 Iba1, ウサギ抗体

Wako

Iba1 は神経系のマイクログリア特異的に発現している約 17kDa のタンパク質で、マイクログリアマーカーとして使用されます。この度、新たな標識抗体をラインアップしました。

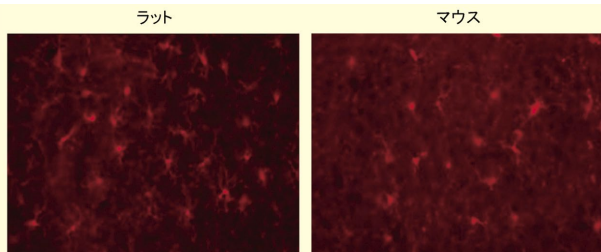
本品は、当社抗 Iba1, ウサギ[コード No.: 019-19741] に Alexa Fluor 568 領域の新規高耐久性蛍光色素 SPICA Dye™ 568 (Ex = 556nm, Em = 591nm) を標識した抗体です。標識二次抗体による、検出操作の手間を省くことができます。

製品概要

抗原	合成ペプチド (Iba1 の C 末端配列相同)
Buffer 組成	PBS、0.05% アジ化ナトリウム
標識	SPICA Dye™ 568 (Ex=556nm, Em=591nm)
交差性	マウス、ラット
抗体濃度	0.5mg/mL
適応	免疫組織化学 (凍結切片) 1:200-1:2,000

使用例

免疫組織染色



サンプル: マウス、ラットの脳皮質
抗体: 抗 Iba1, ウサギ, SPICA Dye™ 568 結合
希釈率: 1:200

(データご提供: 創価大学 中嶋先生)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
015-28011	Anti Iba1, Rabbit, SPICA Dye™ 568-conjugated	免疫化学用	100μL	50,000

関連製品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-19741	Anti Iba1, Rabbit (for Immunocytochemistry)	免疫化学用	50μg	40,000
013-27691	Anti Iba1, Rabbit (for Paraffin Section)	免疫化学用	50μg	45,000
011-27991	Anti Iba1, Goat	免疫化学用	100μL	45,000
016-26461	Anti Iba1, Rabbit, Biotin-conjugated	免疫化学用	100μL	45,000
013-26471	Anti Iba1, Rabbit, Red Fluorochrome (635)-conjugated	免疫化学用	100μL	48,500
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting)	免疫化学用	50μg	40,000
012-26723	Anti Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP24)	免疫化学用	10μL	15,000
016-26721	Anti Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP24)	免疫化学用	50μL	45,000
017-27591	Anti Human Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP27)	免疫化学用	10μL	13,500
013-27593	Anti Human Iba1, Monoclonal Antibody (NCNP27)	免疫化学用	50μL	40,000

品目追加

ICP 分析用単元素標準液

Wako

当社では不純物の少ない高純度な標準液を品揃えしており、新たに 13 品目追加しました。

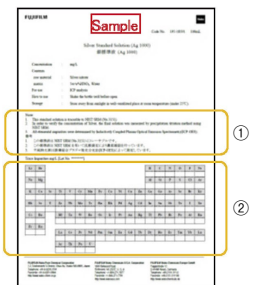
2019 年 7 月より、不純物元素の測定法を変更し、より厳しい不純物元素保証になりました。

特長

- JCSS 実用標準液または NIST SRM にトレーサブル
- 現品説明書にロット毎の不純物元素情報を記載
- 不純物元素の測定を ICP-MS で実施、目標値はすべて 0.05 mg/L 以下

《現品説明書 (単元素標準液)》

- 製品に現品説明書を添付
- トレーサビリティ元、濃度測定の手法を記載 (①)
- 不純物元素情報を記載 (②)



ラインアップ

59 元素をラインアップしています。今後も順次、追加予定です。

ICP 分析用																	
59 元素ラインアップ																	
Li	Be	B	C	N	O	F	Ne	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ar		
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra																
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
		Ac	Th	Pa	U												

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-25701	Cerium Standard Solution (Ce 1000)	ICP分析用	100mL	16,000
053-09331	Erbium Standard Solution (Er 1000)	ICP分析用	100mL	23,000
070-06761	Gadolinium Standard Solution (Gd 1000)	ICP分析用	100mL	15,000
085-10541	Holmium Standard Solution (Ho 1000)	ICP分析用	100mL	24,000
127-06861	Lutetium Standard Solution (Lu 1000)	ICP分析用	100mL	24,000
143-09861	Neodymium Standard Solution (Nd 1000)	ICP分析用	100mL	15,000
167-28781	Praseodymium Standard Solution (Pr 1000)	ICP分析用	100mL	16,000
182-03431	Ruthenium Standard Solution (Ru 1000)	ICP分析用	100mL	32,000
189-03441	Rhenium Standard Solution (Re 1000)	ICP分析用	100mL	24,000
197-18791	Samarium Standard Solution (Sm 1000)	ICP分析用	100mL	15,000
203-21091	Thulium Standard Solution (Tm 1000)	ICP分析用	100mL	25,000
209-21071	Terbium Standard Solution (Tb 1000)	ICP分析用	100mL	15,000
252-00681	Ytterbium Standard Solution (Yb 1000)	ICP分析用	100mL	16,000

その他の元素標準液は、当社 HP をご覧下さい。
試薬事業トップ→分析→元素標準液(金属標準液)→単元素標準液→ICP 分析用元素標準液

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00442.html>

Ref...2 ~ 10°C 保存 F...-20°C 保存 H...-80°C 保存 H...-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、2020 年 7 月時点での情報です。最新情報は、当社 HP をご参照下さい。

不純物確認試験や定量試験に最適な重溶媒

高純度 NMR 溶媒

Wako

本品は、NMR 測定に影響する不純物を低減した NMR 測定用溶媒です。水分と軽水素溶媒以外のシグナル^{*}を認めません。他の溶媒などの不純物を含まず、低水分値を保証しているため、医薬品の品質試験や定量 NMR などを実施する際に有用な高純度 NMR 溶媒です。

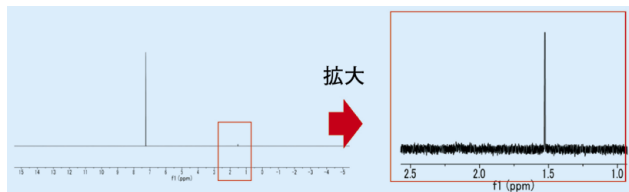
^{*}ベースラインとの強度差が 30% 以上のシグナル

製品規格 クロロホルム-d, 99.8%(高純度)

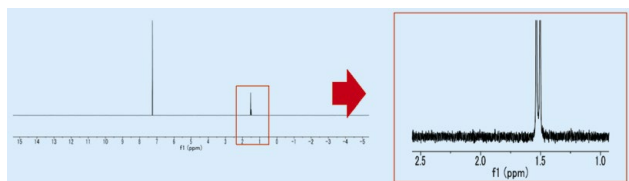
試験項目	規格値
外 観	無色透明の液体
水 分	0.003%以下
重水素化率	99.8%以上
含量 (GC)	99.9%以上
不純物 (NMR) (¹ H)	試験適合
不純物 (NMR) (¹³ C)	試験適合
不純物 (NMR) (³¹ P)	試験適合
不純物 (NMR) (¹⁹ F)	試験適合

¹H NMR チャート例 クロロホルム-d, 99.8%(高純度)

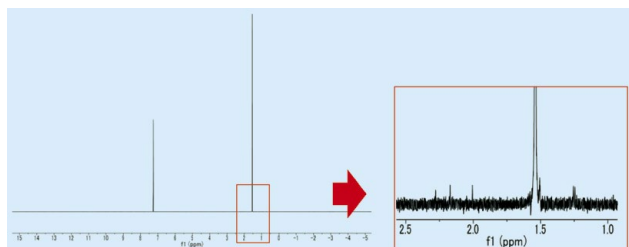
当社高純度 NMR 溶媒



A 社品



B 社品



C 社品



Ⓔ...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、2020年7月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

〈各社比較表〉

	当社高純度 NMR 溶媒		A 社品	
	実測値	規 格	実測値	規 格
水 分	0.000% (0.00015%)	0.003%以下	0.005%	0.02%以下
含量 (GC)	100%	99.9%以上	100%	-
不純物(NMR) (¹ H)	試験適合		備考: 1.49ppm 付近(水分)由来のシグナルが大きい	
	B 社品		C 社品	
	実測値	規 格	実測値	規 格
水 分	0.0013%	0.01%以下	0.0015%	0.01%以下
含量 (GC)	100%	99%以上	100%	99%以上
不純物(NMR) (¹ H)	備考: 1.24、1.51、2.00、2.16、2.27ppm 付近に不純物ピークを確認		備考: 1.25、1.51、2.10ppm 付近に不純物ピークを確認	

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格(円)
018-27901	Acetonitrile-d ₃ , 99.8%(High purity) ㉒-㉓	NMR用	1mL×5A	38,000
031-25531	Chloroform-d, 99.8%(High purity) ㉒-㉓	NMR用	1mL×5A	20,000
044-34471	Deuterium Oxide, 99.8%(High purity)	NMR用	1mL×5A	20,000
040-34571	Dichloromethane-d ₂ , 99.8%(High purity)	NMR用	1mL×5A	35,000
133-18971	Methanol-d ₄ , 99.8%(High purity) ㉒-㉓	NMR用	1mL×5A	28,000

品目は順次追加予定です。

球状シリカゲル

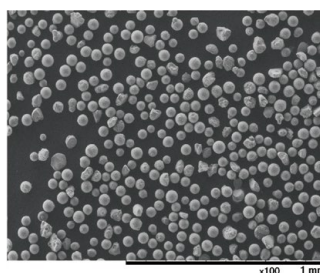
Wakosil[®] 60

Wako

カラムクロマトグラフ用の球状シリカゲル Wakosil[®] 60 シリーズにフラッシュクロマトに最適な粒子径 38~63μm の製品を追加しました。

Wakosil[®] 60 シリーズは分取・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。

製品概要



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

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格(円)
237-02775	Wakosil [®] 60, 38~63μm	カラムクロマト グラフ用	500g	5,500
235-02771			2kg	20,000
233-02777			10kg	68,000
231-02778			25kg	照 会
230-02765	Wakosil [®] 60, 64~210μm	カラムクロマト グラフ用	500g	4,600
238-02761			2kg	13,500
236-02767			10kg	38,000
234-02768			25kg	照 会

検討用サンプルをご希望の方は、当社代理店もしくは当社営業員までお問合せ下さい。

ビタミン A 定量用

Wako

パルミチン酸レチノール標準液

パルミチン酸レチノールはビタミン A (レチノール) を HPLC で定量する際の標準として使用されます。

特長

- ソフトカプセル入りで使いやすい
酸化を防止するため、少量をカプセルに小分けしています。いつでもフレッシュな状態で使用でき、使い残しの無駄がありません。
- パルミチン酸レチノール含量の実測値を添付
製品には HPLC 純度、溶液中パルミチン酸レチノール含量 (国際単位) を記載した文書を添付しています。

製品概要

- 約 250mg/カプセル
- パルミチン酸レチノール：190,000 ~ 240,000IU/カプセル (抗酸化剤・希釈液含有)



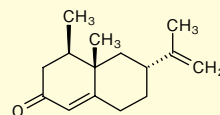
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
188-01331	Retinol Palmitate Standard Solution	高速液体クロマトグラフ用	20カプセル	15,000

生薬試験用試薬

Wako

ノオトカトン標準品

本品は、生薬ヤクチに含まれている成分です。当社では、局方規格並びに自主規格の生薬試験用標準品を多数取り揃えています。



C₁₅H₂₂O=218.33
CAS RN® 4674-50-4

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
140-09871	Nootkatone Standard	生薬試験用	20mg	9,000

最新版「生薬試験用試薬」カタログ配布中

2020年版にリニューアルした生薬試験用試薬カタログを配布中です。日本薬局方17局第二追補に対応しており、TLC写真データやHPLCの分析例も紹介しています。「局方生薬試験用」の試薬・試液を約110品目、「生薬試験用」の生薬成分、生薬標準品を約55品目掲載しています。日本語版のほか、英語・中国語版もあります。



カタログダウンロードはこちら



追加品目のお知らせ

ポジティブリスト関連農薬・動物用医薬品標準品

Wako

当社では、ポジティブリスト制度の対象となる農薬・動物用医薬品の標準品を取扱っています。下記品目を新たに発売しました。

- アフィドピロベン標準品
- クロロタロニル代謝産物 I 標準品
- フェノキサスルホン標準品
- フルフェナセット代謝産物 P1 標準品
- フルピリミン標準品
- フルキサメタミド標準品 (異性体混合物)
- モキシデクチン標準品
- trans-ペルメトリン標準品
- プロクロラズ標準品
- ピリベンカルブ標準品
- ピリベンカルブ代謝産物 B 標準品
- スピロテトラマト標準品
- スピロテトラマト代謝産物 M1 標準品
- α-トレンボロン標準品
- ワルファリン標準品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 016-27941	Afidopyropen Standard	残留農薬試験用	100mg	24,000
NEW 032-25681	Chlorothalonil Metabolite I Standard	残留農薬試験用	20mg	20,000
NEW 068-06901	Fenoxasulfone Standard	残留農薬試験用	100mg	12,000
NEW 064-06861	Flufenacet Metabolite P1 Standard	残留農薬試験用	50mg	27,000
NEW 069-06931	Flupyrimin Standard	残留農薬試験用	50mg	30,000
NEW 065-06891	Fluxametamide Standard (mixture of isomers)	残留農薬試験用	100mg	25,000
NEW 139-18951	Moxidectin Standard	高速液体クロマトグラフ用	50mg	30,000
NEW 168-21033	trans-Permethrin Standard	残留農薬試験用	100mg	25,000
NEW 162-17903	Prochloraz Standard	残留農薬試験用	100mg	14,000
NEW 163-28761	Pyribencarb Standard	残留農薬試験用	100mg	12,000
NEW 160-28771	Pyribencarb Metabolite B Standard	残留農薬試験用	100mg	20,000
NEW 196-18881	Spirotetramat Standard	残留農薬試験用	100mg	30,000
NEW 194-18821	Spirotetramat Metabolite M1 Standard	残留農薬試験用	20mg	30,000
NEW 203-20991	α-Trenbolone Standard	高速液体クロマトグラフ用	20mg	30,000
NEW 238-02283	Warfarin Standard	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・更新しています。詳細は当社 HP をご覧下さい。
試薬事業トップ→分析→食の安全・安心→残留農薬分析 (標準品他) →ポジティブリスト制度 関連試薬 取り扱い標準品一覧
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00370.html>

少量～工業スケールまで

量産化可能な RAFT 剤

Wako

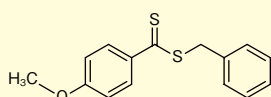
制御リビングラジカル重合手法の一つに、硫黄化合物である可逆的付加-開裂型連鎖移動剤 (Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer agent, RAFT 剤) を用いた重合があります。この重合は、一般的に RAFT 重合と呼ばれ、分子量分布が狭いポリマーの合成に有効です。

当社では、試薬ライブラリーの中から、工業的に生産可能な化合物の量産化を進めています。今回は量産化可能な RAFT 剤として 6 種類の化合物をご紹介します。

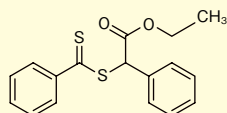
特長

- 少量～工業スケールまで供給可能
- 国内工場生産
- 取扱いが容易な粉末品

ジチオエステル型

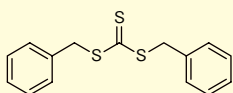


$C_{15}H_{14}OS_2=274.40$
CAS RN® 93198-47-1
1

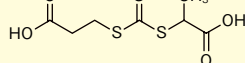


$C_{17}H_{16}O_2S_2=316.44$
CAS RN® 1150308-13-6
2

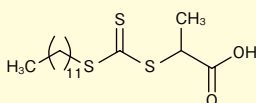
トリチオカルボネート型



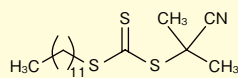
$C_{15}H_{14}S_3=290.47$
CAS RN® 26504-29-0
3



$C_7H_{10}O_4S_3=254.35$
CAS RN® 870451-09-5
4



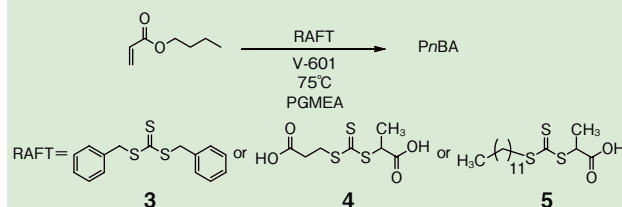
$C_{16}H_{30}O_2S_3=350.602$
CAS RN® 558484-21-2
5



$C_{17}H_{31}NS_3=345.63$
CAS RN® 870196-83-1
6

RAFT 重合によるポリマー合成

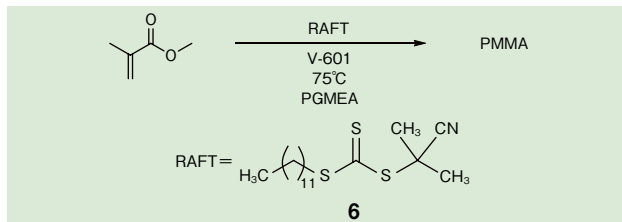
ポリノルマルブチルアクリラートの合成



No.	Monomer	Time (h)	Monomer/ RAFT/Initiator	Mw	PDI Mw/Mn
3	nBA	1	115/1/0.25	13,900	1.20
4	nBA	5	115/1/0.1	15,100	1.29
5	nBA	2	115/1/0.1	13,700	1.14

溶媒量はモノマー・RAFT 剤・開始剤の総重量に対して 50wt%

ポリメチルメタクリラートの合成



No.	Monomer	Time (h)	Monomer/ RAFT/Initiator	Mw	PDI Mw/Mn
6	MMA	5	146/1/0.25	14,400	1.24

溶媒量はモノマー・RAFT 剤・開始剤の総重量に対して 50wt%

nBA : n-Butyl Acetate

MMA : Methyl Methacrylate

V-601 : Dimethyl 2,2'-Azobis(isobutyrate)

PGMEA : Propylene Glycol Methyl Ether Acetate

No.	コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
NEW 1	022-19411	Benzyl 4-Methoxybenzodithioate	有機合成用	1g	18,000
	028-19413			5g	59,000
NEW 2	050-09341	1-Ethoxycarbonyl-1-phenylmethyl Benzodithioate	有機合成用	1g	18,000
	056-09343			5g	59,000
NEW 3	047-33981	S,S-Dibenzyl Trithiocarbonate	有機合成用	1g	14,000
	043-33983			5g	53,000
4	037-24651	2-[[[(2-Carboxyethyl) sulfanylthiocarbonyl] sulfanyl] propanoic Acid	有機合成用	1g	11,500
	033-24653			5g	43,000
5	351-40781	2-[[[(Dodecylsulfanylthiocarbonyl) sulfanyl] propanoic Acid	富士フィルム ワコケミカル(株)	1g	11,000
	357-40783			5g	40,000
6	033-25471	2-Cyano-2-[[[(dodecylsulfanylthiocarbonyl) sulfanyl] propane	有機合成用	1g	16,800

その他の RAFT 剤は当社 HP をご覧下さい。

試薬事業トップ→合成・材料→高分子重合→精密ラジカル重合→RAFT 重合試薬

また、関連製品としてアゾ重合開始剤も多数品揃えしています。

試薬事業トップ→合成・材料→高分子重合→重合開始剤→アゾ重合開始剤

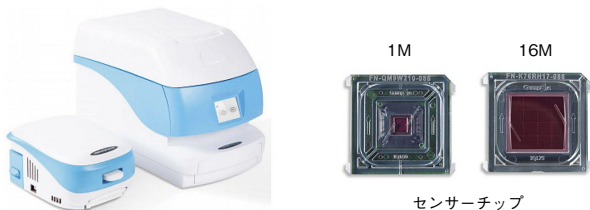
DNA シーケンサー システム GenapSys

GenapSys™ シーケンサー

GenapSys™ シーケンス前処理装置

GenapSys™ シーケンサーは、革新的な塩基検出技術である CMOS（相補型金属酸化膜半導体）シーケンスチップを採用した小型の次世代シーケンサーです。

このシーケンサーを用いたシステムは、実績のある SBS (Sequencing-by-Synthesis) ケミストリーと GenapSys 社独自の次世代シーケンシングテクノロジーである CMOS シーケンスチップにより、単一スクレオチドを電気的に検出することで、高精度なデータを提供します。16M チップを搭載したシーケンサーは、ラン毎に 1.2 ~ 2.0Gb のデータを出力し、まれなバリエーションや転写産物の検出に必要な高い解像度と分析感度を提供します。



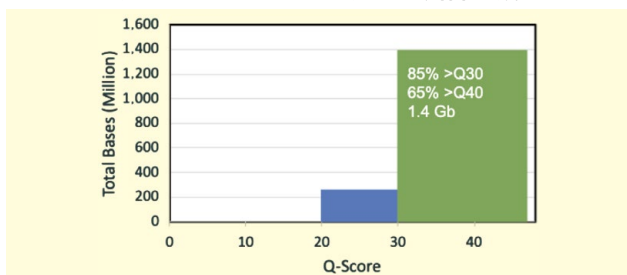
左：GenapSys™ シーケンサー
右：GenapSys™ シーケンス前処理装置

特長

- CMOS シーケンスチップを用いた新しい塩基検出技術による測定法
- 高い測定精度
- センサーチップの変更でデータ出力の拡張が可能
1M：0.2Gb(150bp)、16M：1.2~2Gb(150bp)
※今後はさらに大規模解析用チップも提供予定
- 自動化されたワークフロー
- 感染症学、医学、農学などの広い分野に応用可能
- メンテナンスフリー
- コンパクトなシーケンサー（幅19cm×奥行30cm×高さ14cm）
- 誰でも簡単にシーケンス可能

データ

■ Q30を超える塩基の80%を超える外部生成データ



1.6Gb 実行出力、11.2M 読み取り

仕様

	シーケンサー	シーケンス前処理装置
寸法(W×D×H)	190×300×140mm	285×411×328mm
重量	4.3kg	14.6kg
電源入力、消費電力	100~240V, 50~60Hz, 250W	100~240V, 50~60Hz, 250W

〈共通仕様〉

動作環境	
温度	19 ~ 25°C (22 ± 3°C)
湿度	相対湿度 30 ~ 75% (結露の無いこと)
標高	2,000m 以下
汚染度	2 ^{*1}
英熱量	853BTU/hr@250W
使用場所	屋内に限る
安全規格	
NRTL certified IEC	
FCC/IC Approved	

〈GenapSys™ シーケンサー制御 PC への要求事項^{*2}〉

OS	Windows10 Pro
プロセッサ	x64、2.0GHz 以上
RAM	8 GB
ハードディスク	200GB
グラフィックス	DirectX9、WDDM1.0 ドライバー
ディスプレイ解像度	1,600 × 900
ブラウザ	Google Chrome

※1 汚染度 2 は、通常私たちが活動している家庭やオフィス環境に相当します。

※2 PC はお客様でご用意下さい。

コード No.	品名	数量	希望納入価格(円)
NEW 551-37531	GenapSys™ Sequencer	1台	2,600,000
NEW 558-37541	GenapSys™ Sequencing Prep System	1台	2,500,000

※シーケンサーのご使用には、シーケンス前処理装置が必要ですので併せてお買い求め下さい。

また、別途専用試薬キットも必要です。試薬キットの詳細につきましては当社営業員までお問い合わせ下さい。

当社 HP にてアプリケーションをご紹介しますのでご覧下さい。

Wako GenapSys

検索

新型コロナウイルスのリアルタイム RT-PCR キット

SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit

Wako

本キットは、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2 ; COVID-19 の原因ウイルス) を TaqMan® プロブを用いた 1-step RT-qPCR 法で検出するキットです。高い活性を持つ Hot Start Reverse Transcription DNA Polymerase を用いた 1 酵素系 RT-qPCR 法を採用し、従来約 130 分かかかる RT-qPCR 反応を約 45 分間で終わられます。蛍光標識は FAM です。

特長

- 保険適用対象かつ行政検査に使用可能
- 臨床検体で陽性一致率 100% (10/10)、陰性一致率 100% (15/15)
- 多様なリアルタイム PCR 装置への適応
- 約 45 分間の 1step RT-qPCR 反応 (プログラム設定反応時間は合計約 13 分間)
- 国立感染症研究所検出マニュアルのプライマーとプローブ付属
- ポジティブコントロール RNA 付属



RT-PCR 反応条件

従来の病原体検出マニュアルより約 90 分間の時間短縮が可能です。

装置のプログラム設定条件			
本キット		病原体検出マニュアルの例	
90°C	30 秒間	50°C	30 分間
60°C	5 分間	95°C	15 分間
95°C	3 秒間	95°C	15 秒間
60°C	5 秒間*1	60°C	1 分間
合計設定時間		約 13 分間	約 101 分間
装置の実稼働時間*2		約 45 分間	約 132 分間

- * 1 : リアルタイム PCR 装置の機種によっては 5 秒間を設定できない場合があります。その場合は設定可能な最短時間をセットして下さい。
- * 2 : 装置の温度変化に要する時間を含めた場合です。装置によって温度変化の速度 (ランプ速度) は異なります。

使用実績のあるリアルタイム PCR 装置

- Mic リアルタイム PCR (Bio Molecular Systems)
- CFX 96 Touch リアルタイム PCR 解析 (Bio-Rad)
- Applied Biosystems 7500 Fast リアルタイム PCR システム (Thermo Fisher Scientific)
- QuantStudio 5 リアルタイム PCR システム (Thermo Fisher Scientific)
- QuantStudio 12K Flex (Thermo Fisher Scientific)
- StepOnePlus リアルタイム PCR システム (Thermo Fisher Scientific)
- LightCycler 96 システム (Roche)

Applied Biosystems、QuantStudio、StepOnePlus 及び LightCycler は各社の商標または、登録商標です。

キット内容

RT-qPCR 試薬

● 5× Reaction Buffer	1,200 μL × 2
● 2mmol/L dNTPs	1,200 μL × 2
● 50mmol/L Manganese(II) Acetate	600 μL × 1
● Hot Start Reverse Transcription DNA Polymerase	150 μL × 1
● Distilled Water, Nuclease-free	1,400 μL × 1

プライマー及び TaqMan® プロブ

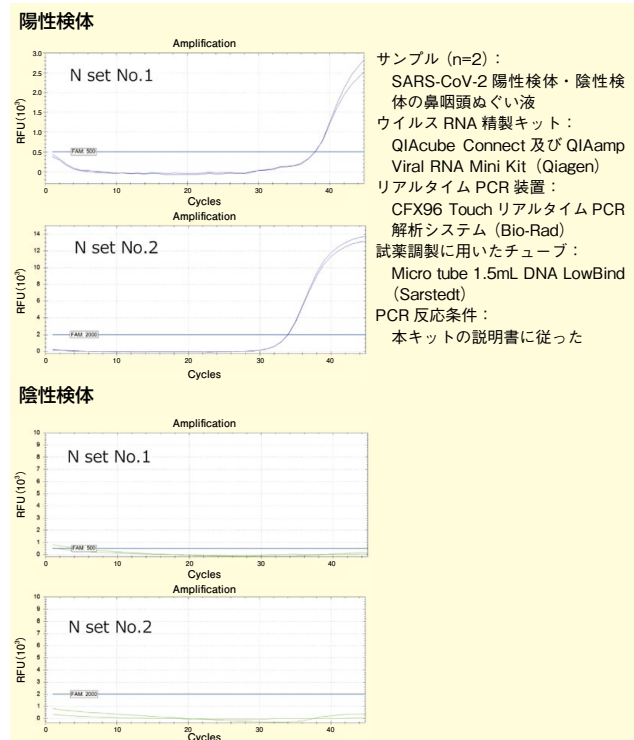
● Fw Primer N_Sarbeco_F1 (10 μmol/L)	360 μL × 1
● Rv Primer N_Sarbeco_R1 (10 μmol/L)	480 μL × 1
● TaqMan® Probe N_Sarbeco_P1 (5 μmol/L)	240 μL × 1
● Fw Primer NIID_2019-nCoV_N_F2 (10 μmol/L)	300 μL × 1
● Rv Primer NIID_2019-nCoV_N_R2 (10 μmol/L)	420 μL × 1
● TaqMan® Probe NIID_2019-nCoV_N_P2 (5 μmol/L)	240 μL × 1

ポジティブコントロール RNA

● Positive Control RNA, N set No.1 (1fg/μL)	1,500 μL × 1
● Positive Control RNA, N set No.2 (N2) (1fg/μL)	1,500 μL × 1

Applied Biosystems 社製、Agilent Technologies 社製機器などで、ウェル間の蛍光強度及び分注誤差を補正する ROX 試薬は含まれていません。キットに PCR プレート及び PCR チューブは付属していません。TaqMan® は Roche Diagnostics K.K. の登録商標です。

臨床検体を用いた使用例



SARS-CoV-2 陽性検体及び陰性検体 (藤田医科大学 提供) の鼻咽頭ぬぐい液から本キットを用いて検出を行った。その結果、陽性検体のみシグナルの上昇が認められた。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
286-32851	SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit	遺伝子研究用 [F]	50回用 (約600ウェル)	160,000

3 カラーデジタル PCR



ナिकासシステム

フランス Stilla 社の Naica™ System (ナिकासシステム) は、クリスタルデジタル PCR という次世代技術による新しいデジタル PCR システムです。マイクロ流体技術により、デジタル PCR のプロセスをサファイアチップ1つで実現します。

特長

- サファイアチップに PCR ミクスチャーを入れるだけの簡単操作
- 3 カラー検出により 3 ターゲットを同時に検出可能
- 25,000 ~ 30,000 ドロップレットを作製し、高感度にターゲットを検出
- 2.5 時間 (PCR 反応を含む) で結果取得



ナिकासシステムは、ナイカジオード・ナイカプリズム 3・クリスタルマイナーのセットです。

製品概要

処理数	12 サンプル / ラン
検出カラー数	3 カラー (Blue、Green、Red)
ドロップレット数	25,000 ~ 30,000
装置専用の消耗品	サファイアチップのみ
測定時間 (PCR 含む)	2.5 時間 / 12 サンプル
サイズ (W × D × H)	ナイカジオード: 35 × 37 × 29cm ナイカプリズム 3: 44 × 34 × 21cm
付属品	圧力ポンプ、デスクトップ PC

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
556-33061	Naica™ System	1セット	19,800,000
553-33071	Sapphire Chips (12個入)	1箱	72,000

実験台などの清拭・除菌に



除菌用 80vol% エタノール

令和 2 年 4 月 10 日付厚生労働省医政局経済課等による事務連絡において、「新型コロナウイルス感染症の発生に伴う高濃度エタノール製品の使用について」の通達がありました。本通達ではエタノールについて、下記の規定があります。

- ・エタノール濃度が原則 70 ~ 83vol% の範囲内であること (消毒効果が十分に得られるよう、より高濃度のものは精製水等で同範囲に薄めて使用すること)。
- ・含有成分に、メタノールが含まれないものであること。

本品は、エタノールを濃度 80vol% に調製した、メタノールを含まない製品です。手指の消毒、実験機器や実験台の除菌やよごれの清拭など、さまざまな場面でお使い頂けます。

※本品は医薬品や医薬部外品ではありませんが、消毒用エタノールの代替品として、手指消毒に使用することが可能です。

特長

- 除菌に最適なエタノール濃度
除菌効果が高いといわれる濃度 (77 ~ 82vol%) に調製しています。



ボトルに詰め替えて、手指消毒や身の回りの除菌にご使用頂けます。

- 2つの容量をご用意
使いきりやすい 500mL 包装と、大容量の一斗缶 (18L) 包装をご用意しています。



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
053-09375	80vol% Ethanol	除菌用	500mL	1,900
059-09377	80vol% Ethanol	除菌用	18L	38,000

☐: 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、2020 年 7 月時点での情報です。最新情報は、当社 HP をご参照下さい。

バイオ医薬品の分析、品質管理に

Wako

リシルエンドペプチダーゼ[®]、組換え体、バイオ医薬分析用 (rLys-C)

リシルエンドペプチダーゼ[®]は、リシンのカルボキシル基側のペプチド結合を極めて特異的に切断するセリンプロテアーゼです。この優れた特異性を利用して、タンパク質の一次構造解析のためのペプチド鎖の断片化や、ペプチドマッピングなどに利用されています。

本品は大腸菌で発現させたリシルエンドペプチダーゼ[®]の組換え体であり、製品中の残存 DNA、宿主由来タンパク質 (HCP)、エンドトキシンを確認していますので、バイオ医薬分析用としてご利用頂くことができます。

特長

- 大腸菌 (*E. coli*) 発現組換え体
- 残存 DNA、HCP、エンドトキシン確認済み
- 高い特異性

製品規格

試験項目	規格値
外観	凍結乾燥品
エンドトキシン試験	20EU/mg 未満
残存 DNA 試験 (qPCR)	10ng/mg 以下
HCP アッセイ	1μg/mg 以下
電気泳動試験 (SDS-PAGE)	試験適合
活性	2.0AU/mg 以上

牛血清アルブミン(BSA)消化試験

BSA に各酵素を加え、1 ~ 18 時間反応させた後、ペプチドの数と非特異切断率に関して解析を行った。

他社品と比較して本品は BSA の消化において高い活性があり、長時間の反応条件下でも高い特異性を保持していることが確認できた。

	本品	他社品
特異性 (反応 1 時間後の非特異切断率)	0%	0%
特異性 (反応 18 時間後の非特異切断率)	10%	20%
活性 (反応 18 時間後のペプチドの数)	41	35

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 124-06871	Lysyl Endopeptidase [®] , recombinant, Biopharmaceutical Analysis Grade (rLys-C) F	細胞培養用	20μg	35,000

関連製品

リシルエンドペプチダーゼ[®] (Lys-C)

Lysobacter enzymogenes から抽出・精製したリシルエンドペプチダーゼ[®] です。

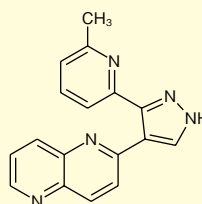
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
121-05063	Lysyl Endopeptidase [®] , Mass Spectrometry Grade (Lys-C) F	プロテオーム研究用	20μg	20,000
125-05061			20μg x5	75,000

再生医療分野の研究に

Wako

CultureSure[®] ALK5 阻害剤 II [RepSox]

本品は、TGFβRI キナーゼ / ALK5 の強力な選択的 ATP 競合型阻害剤です。マウス iPS 細胞樹立時の作製効率の改善¹⁾ やバルプロ酸を含む培地でマウス iPS 細胞樹立時の Sox2 の代替としての使用²⁾ といった研究が報告されています。



C₁₇H₁₃N₅ = 287.32
CAS RN[®] 446859-33-2

特長

- エンドトキシン試験済み
- マイコプラズマ否定試験済み
- 動物由来原料不使用の化学合成品

【参考文献】

- 1) Maherali, N. *et al.* : *Curr. Biol.*, **19**, 1718 (2009).
- 2) Ichida, I. K. *et al.* : *Cell Stem Cell*, **5**, 491 (2009).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
035-25791	CultureSure [®] ALK5	細胞培養用	2mg	15,000
031-25793	Inhibitor II [RepSox] Ref		10mg	60,000

関連製品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
039-24111	CultureSure [®] A-83-01 F	細胞培養用	2mg	16,000
035-24113			10mg	54,000
038-23101	CultureSure [®] CHIR99021 F III	細胞培養用	1mg	12,000
034-23103			5mg	40,000
034-24301	CultureSure [®] IWP-2 Ref	細胞培養用	5mg	22,000
030-24303			25mg	90,600
037-25131	CultureSure [®] IWR-1-endo F	細胞培養用	5mg	19,000
033-25133			25mg	76,000
031-24291	CultureSure [®] SB431542 F	細胞培養用	5mg	20,000
037-24293			25mg	80,000

※ CultureSure[®] 低分子化合物

ES/iPS 細胞の維持や分化誘導に使用される各化合物に対し、エンドトキシンやマイコプラズマ否定試験などの品質試験を実施しています。そのため、細胞培養に安心してご使用頂けます。上記化合物以外にも CultureSure[®] 低分子化合物をラインアップしています。詳細は当社 HP をご覧下さい。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00564.html>

F: 2 ~ 10°C 保存 F: -20°C 保存 III: -80°C 保存 Ref: -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、2020 年 7 月時点での情報です。最新情報は、当社 HP をご参照下さい。

丹下 梅子 (1873. 3. 17 ~ 1955. 1. 29)

鹿児島大学名誉教授 青木 孝良

1. はじめに

明治維新を成し遂げた明治新政府にとっては西欧列強諸国から国を守ることが喫緊の課題だった。そのため西欧諸国に遅れをとっていた科学技術の発展を図るため教育制度を確立することが必須だった。高等教育を充実させるため1894(明治27)年に高等学校令を公付して、旧制高等学校を設置した。また、1894(明治27)年に公付された帝国大学令に基づいて東京帝国大学を設置し、続いて京都帝国大学、東北帝国大学などを設置して高等教育を充実させた。

しかし、維新により時代が刷新されたとはいえ明治時代には未だ封建的な制度が残っていた。女子も尋常師範学校や高等師範学校へ進むことができたが、旧制中学校や旧制高等学校への女子の入学は認められていなかった。また、設立当初の帝国大学への入学は男子に限られ、女子には門戸が閉ざされていた。このような時代に女性を尊重しないことでは日本一といわれていた鹿児島に生まれ、幾多の困難を乗り越えて日本初の女子帝大生となり、アメリカと日本で博士号を取得して化学者への道を切り拓いた丹下梅子(資料によっては丹下ウメと表記、図1)を紹介しよう。

2. 丹下梅子の生い立ち

丹下梅子は1873(明治6)年鹿児島市金生町の丹下伊左衛門の娘として生まれた。父伊左衛門は製糖や製塩で財を成し、金生町など14町の戸長を務め、民間から選ばれた鹿児島市の初代収入役になった。丹下家は鹿児島市の中心部に広大な敷地を持ち、数棟の蔵を有して裕福な生活を送っていた。母エダは地元では人づくりの名人といわれ、梅子の他に慶應義塾大学や東京帝国大学を卒業した兄や東京女子大学を卒業して跡見学園で教鞭をとった姉など7人の子供を育てた。特に東京帝



図1. 丹下梅子 (1873 - 1955)

国大学を出た兄は秀才で第七高等学校の数学の教授になった。

梅子3歳の夏、家の近くに来た祇園祭の神輿を見るため急いで走り転んだ時に持っていた箸が右目に刺さり失明してしまった。責任を感じた母エダは、「女の子だけに嫁にやるわけには行かない。将来は学者にしてみせる。」と誓ったという。姉花子も近くにいた自分が気をつけていれば事故にならなかったのではないかと悔やんだ。

小学校時代の梅子の成績は優秀だった兄姉に比べれば平凡だったが、一度集中すると記憶力と理解力が極めて優れていた。小学校を卒業する頃、尋常師範学校の募集があったが、当時は小学校を卒業後2、3年塾などで勉強してから受験するのが普通だった。梅子は最初年齢が足りないため受験を断られたが、何度か交渉の末に特別に受験が認められた。失明事故で責任を感じていた姉花子が特訓した成果もあり梅子は一番の成績で合格した。梅子は同級生の中では最年少だったが、努力の甲斐あって首席で卒業した。

3. 日本初の女子帝大生

梅子は17歳で尋常師範学校を卒業して母校の名山小学校に採用された。学校でも勿論最年少の先生だったが、校長の信任厚く、2年後には技芸学校(現在の市立鹿児島女子高校)の担当

にもなり充実した教員生活を送っていた。しかし、この頃になると父の家業を継いだ兄が事業に失敗し、丹下家は莫大な借金を抱え遂には広大な屋敷や家屋までも手放すことになってしまった。この頃幸運にも鹿児島に帰郷していた前田正名に会うことができた。前田は母方の親戚で農商務次官を務めたが下野し、貴族院議員、元老院議員を務め、男爵の称号を受けた人物である。梅子に会った前田は梅子の非凡な才能と向学心に感銘を受け、親交のある日本女子大学校の創設を目指していた成瀬仁蔵の下で勉強するよう勧めた。しかも前田は大変面倒見がよく、成瀬に梅子の学費や生活費の援助まで依頼してくれた。

28歳になった梅子は1901(明治34)年4月開学した日本女子大学校家政学部に入學した。寮に入った梅子は成瀬に舎監になるよう依頼されたが、田舎者の自分には不向きだと一旦は断った。しかし、成瀬の強い要請で申し出を受けることになった。これは梅子の東京での学費を軽減するようにと前田から依頼を受けた成瀬の計らいだった。梅子は学生時代を通して和紙に毛筆でノートを取り一心不乱に勉強に励んだ。その結果、全課程において非常に優秀な成績を収めた。

前田正名とともに梅子の運命を変えたのが「日本の薬学と有機化学の祖」といわれている長井長義だった。長井は東京帝国大学の教授だったが、女子の科学教育の重要性を説いた成瀬校長の教育方針に共感して、日本女子大学校で化学を教えていた。化学が好きな梅子は熱心に勉強し、長井に認められて1回生から選ばれた5人の助手の一人となることができた。長井は文部省の化学中等教員検定試験の受験を勧めるだけでなく、受験勉強の指導までした。受験生は全国で45名、1次合格者は僅か6名という難関の試験だったが、見事梅子は合格した。しかも、女性には梅子だけで初めての女子合格者

だった。

東北帝国大学理科大学（現在の東北大学理学部）では開学時に高等師範学校、高等工業学校の卒業生および中等教員検定試験合格者にも受験資格を与える規則改正をした。受験資格を得た梅子は優秀な成績で合格することができた（図2）。梅子と共に黒田チカと牧田らくが合格したが、女子の入学に対して文部省から質問状がくるほどの出来事だった。当初は男子学生の中には女子を軽蔑する者もいたが、梅子が最優秀の成績を取め特待生扱いになると男子も梅子を認めざるを得なくなった。しかし、不幸なことに梅子は肺浸潤に罹り休学を余儀なくさせられ卒業が1年遅れてしまったが、最優秀の成績で卒業した。卒業後大学院に進学し有機化学と生物化学を専攻した。

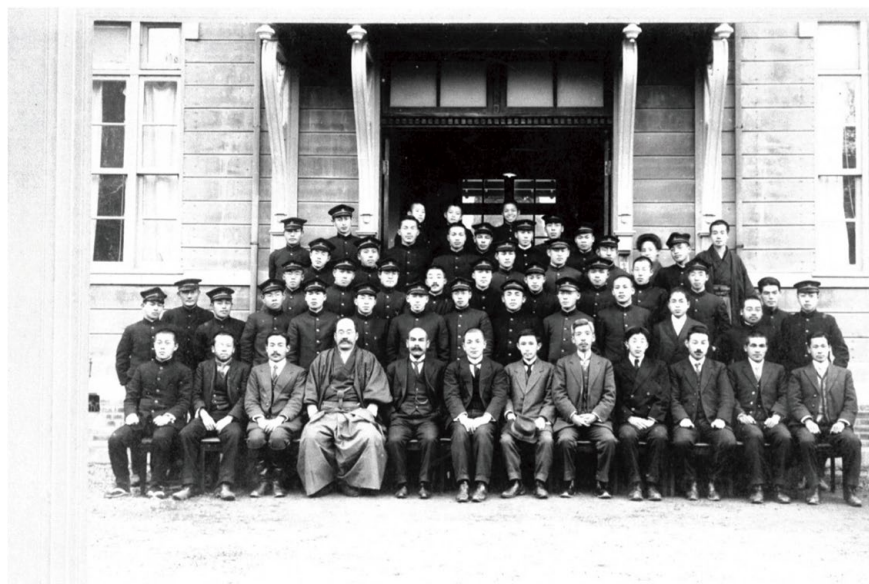


図2. 東北帝国大学時代の丹下梅子
前から4列目右から3番目が丹下梅子（東北大学史料館提供）

4. アメリカ留学

梅子は大学院修了後応用化学教室の助手に採用され充実した日々を送っていたが、女性には栄養学が最も適しているのではないかと考えるようになった。栄養学を勉強するには海外に留学する以外道はないと思い、前田正名に相談した。前田の計らいもあり、文部省・内務省の任命で海外留学が決まった。梅子がスタンフォード大学で留学生生活を始めたのは48歳の時だった。スタンフォード大学では夏季講習で英会話と文法、化学の授業を受けた後、アメリカの教育や学生気質を肌で感じながら留学生活を楽しんだ。1年後には日本女子大学校長の指示でコロンビア大学に移った。コロンビア大学で栄養調査やビタミンCの研究に2年間取り組んだ後、ジョンズ・ホプキンス大学に移り、マッカラム教授の指導を受けることになった。マッカラム教授はビタミンや微量金属の研究者で、梅子の能力を高く評価して奨学金を与えて、大学院で研究をすることを勧めた。大学院での研究は順調に進み3年間で博士を取得することができた。論

文題名は「Preparation and Properties of the Allophanates of Certain Sterols」だった。当時は現在と異なり天然物の分離精製や同定は容易なことではなかった。梅子は、ステロール類（図3A）をアロファン酸（図3B）のエステル誘導体にすれば溶解度が変わり、さらにこの誘導体はNを含んでいることからステロール類の分離精製や同定が容易になると考えた。そして、コレステロールなど5種類のステロールのアロファン酸エステルの合成に成功し、それらの各種溶媒に対する溶解度や各種試薬に対する反応特性を調べた。この研究は有機化合物の合成や分離精製など高度な実験技術を要するもので、研究成果は生化学分野で最も権威のある学術誌 *Journal of Biological Chemistry* に発表された。ジョンズ・ホプキンス大学の大学院修了後はマッカラム教授の推薦でオハイオ州のシンシナティ大学の助手として勤務し、胆汁酸の研究をした。

5. 帰国後の研究生生活そして晩年

梅子は8年間のアメリカでの留学を終えて日本に帰り、母校の生物化学担

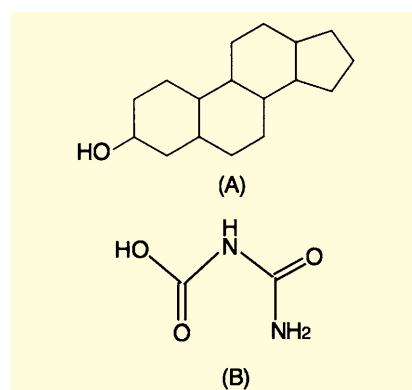


図3. ステロール骨格 (A) とアロファン酸の構造 (B)

当の教授として迎えられた。1930（昭和5）年梅子はすでに57歳になっていたが、栄養学に興味を持っていたのでビタミンB₁研究で知られる農芸化学の大家鈴木梅太郎に師事し、大学での授業を終えた後毎日理化学研究所に通い、研究を続けた（図4）。この頃は今と比べて平均寿命も短く、57歳といえば隠居する頃だったが、梅子の研究に対する情熱は並大抵ではなかった。理化学研究所での研究は動物実験が主だったが、梅子は自分で飼育したラットから生まれたラットを選抜して実験したので評価が高かった。この研



図4. 実験中の丹下梅子
(鹿児島県歴史資料センター黎明館提供)

究成果が認められ、「ビタミンB₂複合体の研究」で東京大学から農学博士の称号が授与された。梅子はアメリカと日本で博士の学位を取得しているが、両方で研究手法が全く異なり梅子の才能の非凡さを窺い知ることができる。

梅子は博士取得後も76歳まで理化学研究所に通い、研究を続け、78歳で大学を退職した。梅子が亡くなった時、当時の鹿児島市長が南日本新聞に「化学の鬼・丹下梅子」と書いたが、研究に明けくれた研究一筋の人生だった。

梅子は退職時に後学の学徒を奨励したいと愛弟子辻キヨに私財を託した。辻は「先覚者丹下先生」を著し、その売上金と合わせて学力・人物優秀者を奨励する丹下賞を創設した。梅子は生涯独身を通し、優秀な姉や兄も早くに亡くなり、晩年は孤独だったが、幸い東京に住んでいた親戚の邸の隣に居を構えることができた。そして退職して4年後の1955(昭和30)年1月29日に81年の生涯を閉じた。

6. 薩摩の風土と誕生の地に建つ石碑と胸像

薩摩藩時代の鹿児島は武士だけが人間扱いされ、男尊女卑の強い土地柄だった。梅子が生まれた頃の鹿児島は、時代が明治に変わったとはいえ未だ薩摩藩時代の封建性の強い風土が色濃く残っていた。明治生まれの女性活動家の回想によれば、父親の膳には一品か二品余計に添えられており、母親



図5. 鹿児島市金生町に建つ石碑

は子供の食い残した魚や冷やご飯で済ませていたという。また、子供も男と女では歴然とした差があり、男子は魚の頭の方が、女子は尻尾の方がお皿に盛られていた。顔を洗うたらいも男と女で厳しく分けられていた。このような風習は第二次世界大戦の前まで続いていたという。梅子の家は商家だったが、両親はこの時代には珍しく先見の明があったのであろう。梅子がアメリカに留学した頃の鹿児島では、女性が世界で活躍することに対して関心が低かった。梅子がアメリカで博士を取得した1927(昭和2)年に鹿児島教育会が編集した「郷土夫人の輝」の中に百人以上の女性が取り上げられているが、梅子はその中にも入っていない。当時の鹿児島では夫のため、家のために尽くすことが女性の模範とされ、女性が科学者として偉大な成果を上げても関心は高くなかった。梅子が生まれた鹿児島市金生町では、鹿児島県育英財団発行の「郷土を興した人」の16人の中で梅子だけが記念碑がなく、このままでは梅子の功績を後世に伝えることができないという危機感から丹下梅子顕彰会ができた。そして、1991(平成3)年に誕生記念碑が建立された。記念碑には梅子の肖像、プロフィールと共に「閉古鳥呼べば答えるものながら」の句が記されている(図

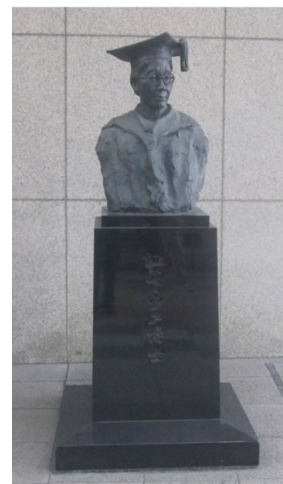


図6. 鹿児島市の百貨店山形屋の玄関横に建つ胸像

5)。梅子の胸像は梅子が亡くなった時に建立計画が持ち上がったが直ぐには実現しなかった。1993(平成5)年に鹿児島ライオンズクラブの記念事業として鹿児島の老舗百貨店山形屋の玄関横に設置された(図6)。なお、胸像は文化勲章受章者で鹿児島大学名誉教授の中村晋也が監修し、日展審査員の楠本香代子が製作した。

謝辞

本稿の執筆を勧めて頂きました京都薬科大学名誉教授桜井弘先生、京都女子大学教授八田一先生に心より感謝申し上げます。

【参考文献】

- 1) 金生町丹下梅子顕彰会：「丹下梅子誕生碑建立記念誌」(1991)。
- 2) 鹿児島県育英財団：「郷土を興した人」(鹿児島県育英財団)(1972)。
- 3) 蟻川芳子・宮崎あかね：「白梅のように－化学者丹下ウメの軌跡」(化学工業日報社)(2011)。
- 4) 辻キヨ：「先覚者丹下先生」(丹下賞設立委員会)(1978)。
- 5) Tange, U. and McCollum, E.V.: "The allophanates of certain sterols". *J. Biol. Chem.*, **76**, 445 (1928)。
- 6) 鹿児島県教育会：「郷土夫人の輝」(鹿児島県教育会)(1927)。
- 7) 川越政則：「南日本風土記(3版)」(鹿児島県民芸館)(1983)。
- 8) 吉井和子：「薩摩おごじょ」(春苑堂出版)(1993)。
- 9) 川越政則：「丹下ウメ博士胸像建立記念録」(川越政則)(1993)。

常圧で芳香環を還元できる触媒

Wako

Rh-Pt/(DMPSi-Al₂O₃)

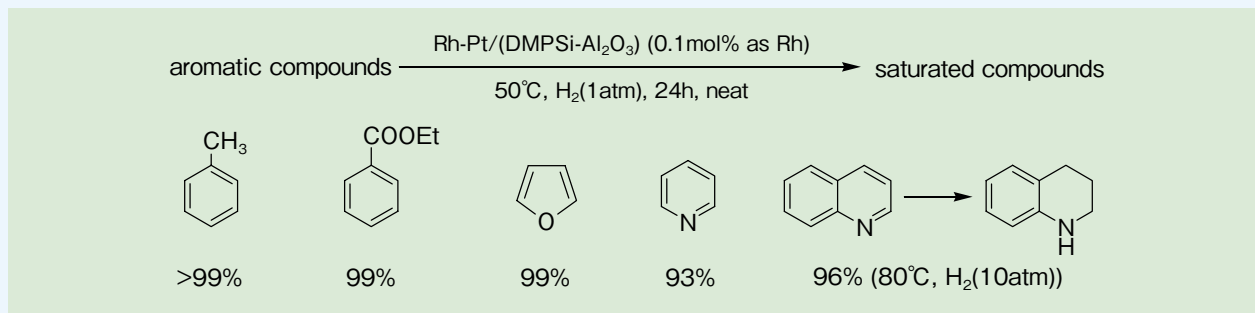
ベンゼンなどの芳香環類の水素化反応は、医薬品及び生理活性物質などの機能性分子の合成に重要な反応です。本品は、芳香環類の水素化反応に適したロジウム-白金 (Rh-Pt) をジメチルポリシラン (DMPSi) とアルミナに担持させたナノ粒子触媒です。バッチ法及びフロー法において、幅広い基質に対して使用可能です。

特長

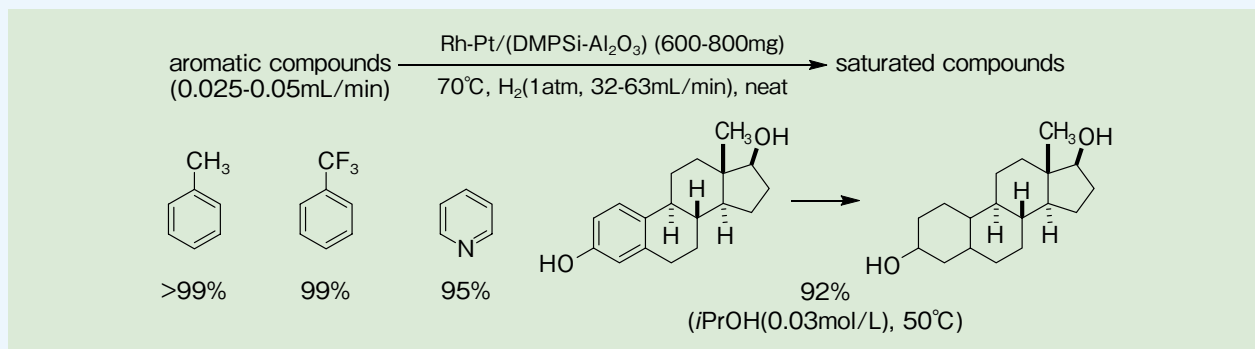
- 非常に穏やかな条件 (30 ~ 80°C, 1 atm H₂) で芳香環水素化が可能
- 連続フロー法にて50日間以上の連続運転で活性を維持
- フロー法はバッチ法に比べ触媒回転数が最大で27倍

反応例

■ バッチ反応



■ フロー反応



【参考文献】

1) Miyamura, H. *et al.* : *J. Am. Chem. Soc.*, **140**, 11325 (2018).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 186-03451	Rh-Pt/(DMPSi-Al ₂ O ₃)	有機合成用	1g	15,000
NEW 182-03453			5g	50,000

Ref…2 ~ 10°C保存
 F…-20°C保存
 80…80°C保存
 150…150°C保存
 表示がない場合は室温保存です。
 特定 毒1…特定毒物
 毒2…毒物
 劇1…劇物
 劇2…劇物
 毒薬…毒薬
 劇薬…劇薬
 危…危険物
 向…向精神薬
 特麻…特定麻薬向精神薬原料
第1…化審法 第一種特定化学物質
第2…化審法 第二種特定化学物質
化兵1…化学兵器禁止法 第一種指定物質
化兵2…化学兵器禁止法 第二種指定物質
カルタヘナ…カルタヘナ法
覚…覚せい剤取締法
国民…国民保護法
 掲載内容は、2020年7月時点での情報です。上記以外の法律及び最新情報は、当社HPをご参照下さい。

取載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとしては使用できません。

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol. 88 No. 3

2020年7月15日発行

発行責任者 吉井陽市

編集責任者 鎌田裕子

発行所 富士フィ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://ffwk.fujifilm.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-jiho@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.

■ 富士フィルム和光純薬株式会社 (Japan)
試薬 URL <https://labchem-wako.fujifilm.com>
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