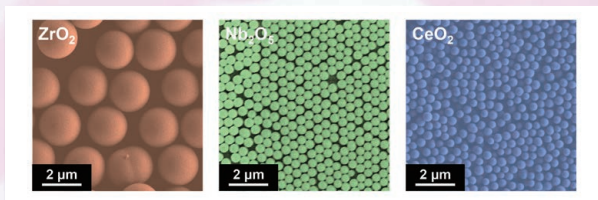


和光純薬時報

January 2022
Vol.90 No.1



〔総説〕

- 「マリモ状ナノ粒子集合体の簡便合成と応用展開」 谷口 彩乃、大谷 政孝、小廣 和哉…………… 2
 「高性能かつ高純度 n 型有機半導体 BQQDI 群の合成のための鍵前駆体」 熊谷 翔平、岡本 敏宏…………… 5
 「ストレス型 RNA ベクターの開発と次世代細胞リプログラミング技術への応用」 中西 真人…………… 8

〈テクニカルレポート〉

- 「細胞内アセチル CoA を活性化して可視化する蛍光検出プローブ」 山次 健三、金井 求…………… 11
 「第 36 回 Wako ワークショップ見聞録 核酸をベースとした免疫制御技術 – mRNA ワクチンの次へ–」 小檜山 康司…………… 29

【連載】

〈微量元素分析—さまざまな分野での活用事例とその重要性—〉

- 「第 3 回 キレート樹脂濃縮法による環境水試料の前処理法における注意点」 藤森 英治…………… 13

〈ヒト iPS 細胞由来分化細胞の創薬応用〉

- 「第 3 回 ヒト iPS 細胞由来肝細胞を用いた *in vitro* 肝評価系構築の可能性」 石田 誠一…………… 16

〈よくわかる BDNF—基礎から臨床まで—〉

- 「第 3 回 BDNF と精神疾患との関与 (BDNF 経路を介した可塑性の制御と精神疾患)」 梅森 十三…………… 18

〔化学大家〕

- 「菅澤 重彦」 塩入 孝之…………… 33

〔製品紹介〕

有機合成

- マリモ粒子 …………… 4
 n型有機半導体材料 …………… 7
 RH-NH₂ …………… 12
 核酸合成用試薬…………… 21
 歯科接着性モノマー …………… 21
 PAFR-II …………… 22

環境・分析

- ICP分析用単元素標準液 …………… 15
 生薬試験用試薬…………… 23
 ポジティブリスト関連農薬標準品 …………… 23
 ニトロソアミン類標準品 …………… 24
 ICH Q3C試験用溶媒 …………… 24
 崩壊試験・溶出試験用試薬 …………… 24

遺伝子

- Exosome-Depleted FBS …………… 25
 ISOSPIN Liquid Sample miRNA …………… 26
 SARS-CoV-2 del1247-253 Mutation Detection Kit …… 27

細胞生物

- PBS(-), 粉末, 1L用 …………… 27

培養

- SRV™ iPSC Vector シリーズ …………… 10
 rBC2LCN (AiLecS1), アニマルフリー …………… 28
 生体機能チップ (Organ-on-a-chip) …………… 28

免疫

- Mature BDNF ELISAキットワコー, 高感度品…………… 20
 レビス® インスリン-ヒト (発光系) …………… 36

〔お知らせ〕

- 金属標準液 総合カタログのご案内…………… 15
 核酸抽出・精製試薬カタログのご案内…………… 26
 農薬・動物用医薬品混合標準液検索システム …………… 23

1 はじめに

活性炭、シリカ、ゼオライト、金属—有機構造体（MOF）等に代表される多孔性材料は、広大な表面積や多数の細孔を有するため、物質吸着や物質貯蔵—放出等に極めて有利であり、多方面で利用される代表的な機能材料である。中でもシリカやマグネシア、アルミナ、チタニア、ジルコニア、セリア等の（金属）酸化物からなる酸化物多孔体は熱安定性や機械的強度に優れているため、貴金属ナノ粒子触媒の担体として重要である。また、ゼオライトやニオブアのように固体酸として用いる場合にも、反応を加速するには多孔形状は極めて有利である。

多孔体を得るため、液体燃焼合成法、脱合金、電気化学析出法、スプレー熱分解法、ゾルーゲル法、鋳型合成法等の様々な手法がこれまでに開発されている。さらに近年では、高温の溶液反応である水熱法や高温の非水溶媒を用いるソルボサーマル法も盛んに用いられるようになってきている。とりわけソルボサーマル法では、多数の反応パラメーターを精密に制御できるメリットがあり、反応溶媒の選択による極性、粘性、溶解度、溶媒和の制御、加熱スピードによる生成物核の発生速度の制御、加熱温度による結晶子サイズの制御および二次粒子サイズの制御等により、目的に応じて様々な粒子が作り分けられる。我々もこのユニークなソルボサーマル法に着目し、TiO₂の一次粒子が無数に集まった球状多孔体をワンポット・単工程反応で得ることに成功している¹⁾。得られた多孔体の外見が阿寒湖に生育する毬藻（マリモ）にととても似ているので、Micro-/meso-porously Architected Roundly Integrated Metal Oxideの頭文字を取りMARIMIO多孔体と名付けた。本総説では、著者らが最近発表した各種金属酸化物からなるMARIMIO多孔体の

表1. 各種 MARIMIO 多孔体の合成条件

MARIMIO	金属化合物	補助剤	溶媒	文献
TiO ₂	Ti(O ⁱ Pr) ₄	phthalic acid	methanol	1, 2
SiO ₂	Si(OEt) ₄	phthalic acid	ethanol	2
ZrO ₂	Zr(O ⁱ Bu) ₄	acetylacetone	ethanol	3
CeO ₂	Ce(NO ₃) ₃	triethylene glycol	acetonitrile	4
Nb ₂ O ₅	Nb(OEt) ₅	formic acid	methanol	5
Al ₂ O ₃ -TiO ₂	Al(O ⁱ Pr) ₃ +Ti(O ⁱ Pr) ₄	phthalic acid	methanol	7
SiO ₂ -TiO ₂	Si(OEt) ₄ +Ti(O ⁱ Pr) ₄	phthalic acid	methanol	8
SiO ₂ -ZrO ₂	Si(OEt) ₄ +Zr(O ⁱ Bu) ₄	acetylacetone	ethanol	未発表
TiO ₂ -Nb ₂ O ₅	Ti(O ⁱ Pr) ₄ +Nb(OEt) ₅	formic acid	methanol	5, 9
ZrO ₂ -CeO ₂	ZrO(NO ₃) ₂ +Ce(NO ₃) ₃	formic acid	methanol	10
CoMnO _x	Co(NO ₃) ₂ +Mn(NO ₃) ₂	diethylene glycol	methanol	11
NiMnO _x	Ni(NO ₃) ₂ +Mn(NO ₃) ₂	diethylene glycol	methanol	11
CoFeMnO _x	Co(NO ₃) ₃ +Fe(NO ₃) ₃ +Mn(NO ₃) ₂	diethylene glycol	methanol	11

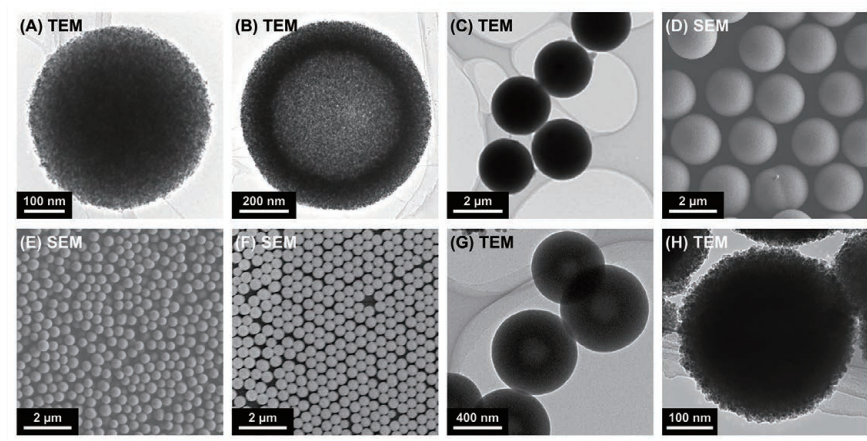


図1. 各種MARIMIO多孔体のTEMおよびSEM画像。(A) TiO₂中実粒子、(B) TiO₂中空粒子、(C) SiO₂、(D) ZrO₂、(E) CeO₂、(F) Nb₂O₅、(G) SiO₂-TiO₂、(H) CoMnO_x

合成と応用について述べる。

2

TiO₂、SiO₂、ZrO₂、CeO₂、Ni₂O₅ MARIMIO 多孔体およびそれらの複合 MARIMIO 多孔体の合成

著者らが用いるソルボサーマル法の手順について簡単に紹介する。チタンテトライソプロポキシドとフタル酸のメタノール溶液をSUS316反応管に封入し、約30秒で300℃まで急速加熱後、10分間300℃に保った。その後、反応管を氷浴に投入し反応を停止することでTiO₂ MARIMIO多孔体を得た（図1A）^{1a)}。このように合成工程は「前駆体溶液を加熱する」のみであり、究極的に単純な反応操作である。得られた

TiO₂ MARIMIO多孔体は、約5 nmのアナターゼ型TiO₂単結晶の一次粒子が無数に集まった約600 nmの粒径を持つ球状多孔体であり、300 m² g⁻¹を超える高い比表面積を有している。また、多孔体は微小な無数の一次粒子の集合体であるため、表面ナノ凹凸構造が形成されていることもMARIMIO多孔体の大きな特徴である。さらに、加熱速度を下げるだけで中空多孔体も得られる（図1B）²⁾。このように、金属化合物と補助剤を含むアルコール溶液を加熱するのみで目的物が得られるこのソルボサーマル反応は極めて汎用性があり、同様の手法でSiO₂²⁾、ZrO₂^{2,3)}、CeO_{2-x}^{2,4)}、Nb₂O₅⁵⁾ MARIMIO多孔体、およびそれらの複合体も容易に得られる（表1、図1）。さらに、この合成反

応は容易にスケールアップ可能であり、高知県・地元企業・高知工科大学の産学官連携事業の成果により、現在、1日あたり1 kgのスケールで生産可能な商用プラントが稼働している⁶⁾。

3 遷移金属 MARIMO 多孔体の合成

著者らのアルコールを溶媒とするソルボサーマル法は上記以外の金属酸化物の合成にも極めて有効である¹¹⁾。通常、遷移金属イオンを出発物質とする金属酸化物の合成においては、溶液中での反応速度が極めて速いため、結晶サイズ・結晶外形・多孔構造の制御が難しい。また、2種以上の遷移金属元素を含む複合酸化物は、近年、燃料電池や人工光合成触媒などへの応用が期待される重要な物質群であるが、金属組成比の制御、均一性、多孔質化（大表面積化）の両立はさらにハードルが上がる。従来、遷移金属酸化物系の反応では、高温高压水を反応場とする水熱反応と鋳型となる界面活性剤の添加を組み合わせた手法がよく用いられてきた。しかしながら、高温高压水中の反応では結晶成長が極めて速いこと、多孔質化のためには大量の界面活性剤の添加を要するなど、課題も多かった。著者らは、上記の急速加熱法と添加剤を加えたソルボサーマル法により、溶液中での遷移金属イオンからの結晶核生成と結晶成長の制御を試みた。様々な溶媒と添加剤の組み合わせを網羅的に検討した結果、溶媒としてはメタノールあるいはアセトニトリル、添加剤としてはジエチレングリコールの添加が最適であることを見出した。著者らは、系中において添加剤が金属イオンあるいは反応初期に生成した結晶核表面と弱く配位し、適度な平衡状態にあることが鍵であると考えている。反応により得られた遷移金属複合酸化物は、アルコールによる簡単な洗浄のみで回収することができ、後

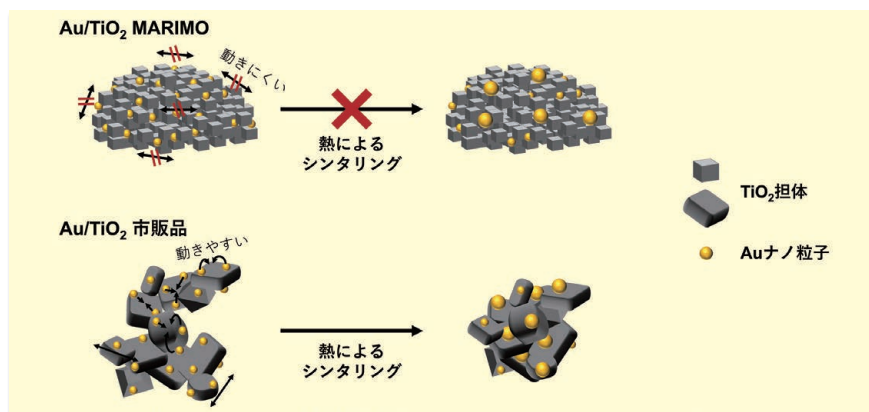


図2. 貴金属ナノ粒子を担持した表面ナノ凹凸 TiO₂ 多孔体の高温耐久性の概念図

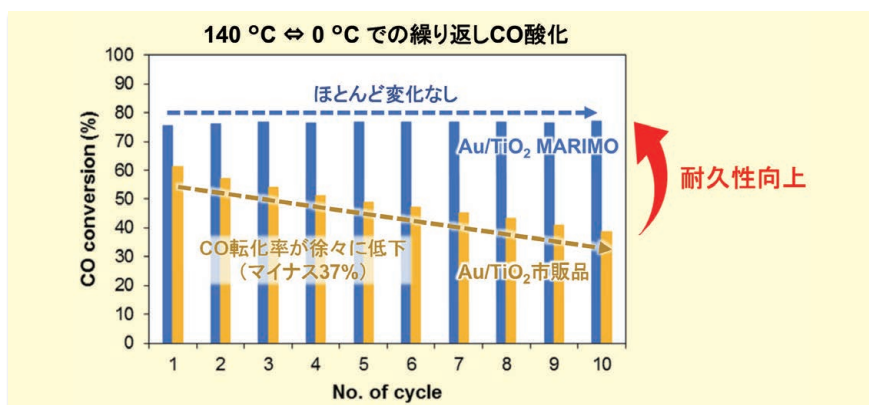


図3. Au/TiO₂ MARIMO 触媒と Au/TiO₂ 市販品触媒による CO 酸化反応の CO 転化率

処理として焼成などの鋳型除去は不要である。上記のTiO₂ MARIMOなどと同様に、粒子は表面に微細なナノ凹凸構造を有する多孔体であり、表面積はCo-Mn系複合酸化物としては極めて高い155 m² g⁻¹を示した。また、前駆溶液に用いる原料金属塩の組み合わせを変えるだけで、Ni-Mn複合酸化物、Co-Fe-Mn複合酸化物など様々な複合酸化物系の合成に適用可能であり、汎用的な合成法として有用であることを示した。

4 触媒、触媒担体、リチウムイオン電池負極材への応用

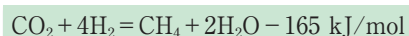
通常、貴金属ナノ粒子触媒は担体表面に分散・担持して使用される。しかし、貴金属ナノ粒子と担体表面の相互作用が弱い場合、貴金属ナノ粒子は自ら発する反応熱等で容易に移動し、シ

ンタリング（ナノ粒子の凝集・焼結現象）を起こす。これを解決するために、ナノ粒子と担体表面の接触面積を増やす、あるいは担体の格子欠損上にナノ粒子を固定する等の方策がとられているが、その効果は限定的である。そこで、我々は「表面ナノ凹凸間に貴金属ナノ粒子を挟み込み、かつ格子欠損上にナノ粒子を固定し、熱によるシタリングを遅延する」という全く新しい概念を提案した（図2）^{3, 12)}。TiO₂ MARIMO多孔体に担持したAu触媒（Au/TiO₂ MARIMOと略す）を大きな発熱を伴うCO酸化反応（式1）に用いたところ、反応開始温度がAu/TiO₂市販品触媒に比べ50°Cも低温化すると同時に長時間に亘り触媒活性を維持した（図3）¹²⁾。また、CeO_{2-x} MARIMO多孔体は、本来は大気中で不安定であるCe³⁺を安定に57.4 at%も含む比類のないCeO_{2-x}球状多孔体であ

り、 $268 \mu\text{mol-O g}^{-1}$ (400°C) もの酸素貯蔵能を示した⁴⁾。さらに、Pt/CeO_{2-x} MARIMOはCO酸化反応に対しPt/CeO₂市販品より 50°C も低い温度から触媒活性を示した。同様に、Ni/ZrO₂ MARIMO触媒を用いて発熱反応であるサバチエ反応(式2)を行ったところ、Niナノ粒子の長時間に亘るシンタリング耐性と、 50°C もの反応開始温度の低温化が見られた³⁾。加えて、多孔体へのLiイオンの容易な移動を期待し、7 at%のNbをドーパしたアナターゼ型TiO₂ MARIMO多孔体(Nb₂O₅-TiO₂ MARIMO多孔体)をリチウムイオン電池負極材に用いた。その結果、この多孔体は、1000サイクル目でさえ、 147 mA h g^{-1} の放電容量と、 10°C の高い電流率における 110 mA h g^{-1} の放電容量を示し、商用のLi₄Ti₅O₁₂に勝るとも劣らない優れた負極材となることが判明した⁹⁾。



式1



式2

5 高分子架橋剤

MARIMO多孔体の表面ナノ凹凸構造を生かす別の応用例として、高分子化合物の架橋剤への応用を考えた。ヒドロゲルを高分子化合物に選び、機械的強度および熱的強度の大きいZrO₂ MARIMO多孔体を架橋剤とすることで、有機—無機ハイブリッド材料とした¹³⁾。多孔体の添加による高分子ヒドロゲル中の架橋ネットワーク構造の変化を評価するために、マクロスケールの

引張試験を用いた。その結果、わずか0.02 wt%のZrO₂ MARIMO多孔体を含む30 wt%のpoly(*N*-isopropylacrylamide)からなるヒドロゲルは、表面ナノ凹凸のない平滑表面を有するZrO₂球体を架橋剤とするヒドロゲルと比較し、1.4倍の応力を示した。このことは、MARIMO多孔体の表面ナノ凹凸構造が高分子ネットワークと複雑に絡みつき、ヒドロゲル中の効果的な架橋点として機能していることを示唆している。この特性を生かし、ZrO₂ MARIMO多孔体を用いた歯科用接着用レジンセメントが開発され市販されている¹⁴⁾。また、このレジンセメントは、令和3年度四国地方発明表彰 四国経済産業局長賞を受賞している¹⁵⁾。

6 おわりに

以上のように我々は有機溶媒中でのワンポット・単工程ソルボサーマル反応を用い、各種酸化ナノ粒子からなる球状多孔体の合成に成功した。反応は単純であるため、容易に工業化できることを示した。また、高比表面積と理想的な表面ナノ凹凸構造を有しているため、耐熱性に優れた触媒や触媒担体となることを見出した。さらに、リチウムイオン電池の負極材や高分子の架橋剤への応用展開の道も開けた。今後、新たな複合材料へと導きさらなる発展を図る予定である。

【参考文献】

- (a) Wang, P. *et al.* : *Chem. Lett.*, **41**, 264 (2012). (b) Wang, P. *et al.* : *Pure Appl. Chem.*, **86**, 785 (2014). (c) 大谷政孝 他 : *化学*, **72**, 70 (2017).
- Wang, P. *et al.* : *J. Supercrit. Fluids*, **78**, 124 (2013).
- Kan, K. *et al.* : *Eur. J. Inorg. Chem.*, 4435

- (2020).
- Taniguchi, A. *et al.* : *RSC Adv.*, **11**, 5609 (2021).
- Kumabe, Y. *et al.* : *RSC Adv.*, **10**, 14630 (2020).
- 宇治電化学工業株式会社HP, MARIMOトップ <https://www.ujiden-net.co.jp/marimo/index.html> (2021年11月16日 閲覧)
- Pradeep, E. K. C. *et al.* : *Eur. J. Inorg. Chem.*, 5621 (2015).
- Nguyen, H. T. T. *et al.* : *Eur. J. Inorg. Chem.*, 3017 (2017).
- Tanaka, Y. *et al.* : *ACS Appl. Energy Mater.*, **2**, 636 (2019).
- Pradeep, E. K. C. *et al.* : *J. Supercrit. Fluids*, **97**, 217 (2015).
- Ohtani, M. *et al.* : *Inorg. Chem.*, **56**, 11546 (2017).
- Duriyasant, F. *et al.* : *ChemCatChem*, **10**, 3392 (2018).
- Kan, K. *et al.* : *Nanoscale Res. Lett.*, **15**, 51 (2020).
- YAMAKIN株式会社HP, マリモセメントLC https://www.yamakin-gold.co.jp/prdct_dental/product/marimo/ (2021年11月16日 閲覧)
- 公益社団法人発明協会HP, 令和3年度四国地方発明表彰 http://koueki.jiii.or.jp/hyosho/chihatsu/R3/jusho_sikoku/detail/sikoku_miti.html (2021年11月16日 閲覧)



ソルボサーマル反応

高温の溶媒を用いる合成反応。場合によっては溶媒の沸点を超える温度かつ高压で反応を行う。

シンタリング

高温により複数の微粒子が移動、凝集し、焼結する現象。シンタリングにより触媒金属が肥大化すると、活性サイトが減少するため触媒活性は著しく失われる。

酸素貯蔵能

酸化雰囲気では酸素を貯蔵し、還元雰囲気では酸素を放出する能力を酸素吸蔵放出能という。酸素貯蔵能は、単位量の酸素貯蔵材料が貯蔵・放出できる酸素量を示す指標である。

マリモ粒子

Wako

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 139-19171	マリモ粒子 (ZrO ₂)	機能性 無機材料用	5g	照会

詳細は当社HPをご覧ください。

試薬事業トップ→合成・材料→無機材料→金属多孔質材料→マリモ粒子
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/02228.html>

はじめに

近年、軽くてフレキシブルな半導体デバイスが関心を集めており、ディスプレイ、センサー、電子タグなどの電子デバイスから薄膜太陽電池のような発電デバイスまで、多岐に渡る研究がおこなわれている。これらの中核材料の一つである半導体として、従来はシリコンが用いられていたが、最近ではより軽量性、フレキシビリティ、生体・環境適合性などに優れた有機半導体材料の開発や、有機電界効果トランジスタ(Organic Field-Effect Transistor: OFET)、有機発光ダイオード(Organic Light-Emitting Diode: OLED)、有機薄膜太陽電池(Organic PhotoVoltaic Cell: OPV)などへの応用研究が積極的に展開されている。半導体の重要な電子的性質の一つに、主として伝導するキャリアの種類(正孔/電子)が挙げられる。シリコンの場合は、ホウ素やリンなどの不純物をドーピングすることで正孔伝導(p型)と電子伝導(n型)とが制御されている。一方で、有機半導体デバイスでは最高被占軌道(Highest Occupied Molecular Orbital: HOMO)や最低空軌道(Lowest Unoccupied Molecular Orbital: LUMO)が伝導に関わり、現実的な方法でHOMOやLUMOにキャリアをドーピングしなければいけないため、その軌道準位がp型とn型の性質を決める重要な指標となる。また、キャリアの流れやすさ(移動度)も半導体の重要な性質の一つであり、固体中での結合・集合体構造に影響される。有機半導体は、パイ共役系の構造により分子軌道準位や集合体構造を幅広く制御できるため、多彩な分子設計性に立脚した材料開発により、シリコンでは困難な半導体デバイスの開発が期待される。

我々は最近、主にOFETへの応用を指向し、3,4,9,10-ベンゾ[de]イソキノリノ[1,8-gh]キノリントラカルボン酸ジイミド(3,4,9,10-benzo[de]isoquinolino[1,8-gh]quinolinetetracarboxylic diimide: BQQDI)骨格(図1)からなる高性能

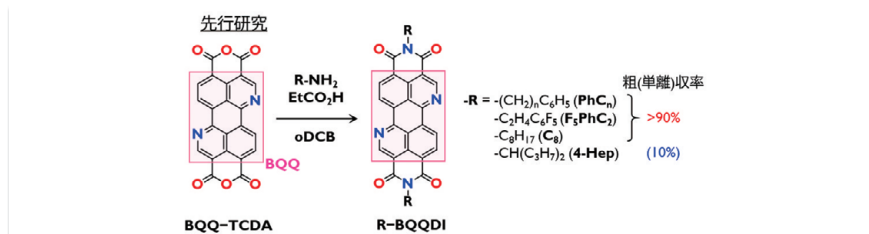


図1. BQQ骨格と、先行研究におけるR-BQQDIの合成方法と代表的な収率

n型有機半導体材料の開発を進めている¹⁻³⁾。BQQDI骨格は、n型有機半導体や色素として広く知られるペリレンジイミド(3,4,9,10-perylenetetracarboxylic diimide: PDI)に類似した分子構造であるが、ペリレン骨格に電気陰性な窒素原子を置換することでLUMO準位を0.3 eV程度深められることが分かった。 -4.0 eV(真空準位基準)より深いLUMOを持つ有機半導体は大気安定なn型OFETとして有用であるが⁴⁾、BQQDI誘導体のLUMO準位は、密度汎関数計算およびサイクリックボルタンメトリーによりそれぞれ -4.17 eVおよび -4.11 eVと見積もられ、有望なn型有機半導体として幅広い材料開発が期待される。また、BQQDIやPDIなどイミド結合を持つ有機分子では、イミド窒素上に様々な置換基を導入することで集合体構造や電子状態を変えることが可能である。そこで、様々な置換基を持つBQQDI誘導体の合成に興味を持たれるが、従来の合成方法にはいくつかの課題が残されていた(詳細は次項で述べる)。本稿では、この課題を克服するためにおこなった合成研究で得られた知見を基に、BQQDI誘導体合成のための鍵前駆体と得られた誘導体の合成、集合体構造およびOFET特性について解説したい⁵⁾。

BQQDIの新規鍵前駆体と合成方法

これまでに報告されていたBQQDIのほとんどは、イミド置換基として直鎖アルキル基やフェニルアルキル基のような、イミド窒素にメチレン基が結合したものであった。一方、参考文献1)ではメチン基が結合した4-ヘプチル基置換BQQDI(4-Hep-

BQQDI)を報告しているが、収率が10%と極端に低かった(図1)。今後の研究展開においてこのような合成収率の低さは弊害であると考えたため、我々はBQQDI誘導体の合成方法について再考することとした。元々、BQQDIの合成には3,4,9,10-ベンゾ[de]イソキノリノ[1,8-gh]キノリントラカルボン酸二無水物(3,4,9,10-benzo[de]isoquinolino[1,8-gh]quinolinetetracarboxylic dianhydride: BQQ-TCDA)が用いられていた。これは、PDIで一般に用いられる前駆体(3,4,9,10-perylenetetracarboxylic dianhydride: PTCDA(CAS RN[®] 128-69-8))に倣っている。なお、PTCDAは様々なPDI化合物に良好な収率で誘導することができるため、反応性に関してはBQQ-TCDAとの間に本質的な差異があると推察される。この詳細については追究の余地があるが、現在のところ、深いLUMOレベルおよび分子間相互作用の増強を目的として骨格に導入した電気陰性な窒素による、電子的な効果や溶解性の低下によるものと考えられる。さて、BQQ-TCDAは1,5-ジニトロアントラキノンを出発原料として7ステップで合成されている(図2)¹⁾。ここで、BQQ-TCDAの前駆体として得られる、BQQの3,9位にメチルエステル、4,10位に2,4,6-トリクロロフェニルエステルを有する(テトラエステル体)化合物に着目した(図2青枠)。すなわち、エステル-アミド交換反応によりテトラエステル体に目的置換基をアミドとして挿入し、続くアミドとエステルとの分子内閉環反応により、イミド結合ができないかと考えた。この検証のため、テトラエステル体を用いて4-ヘプチル基の導入を試みたところ、収率86%で4-Hep-BQQDIを得ることが

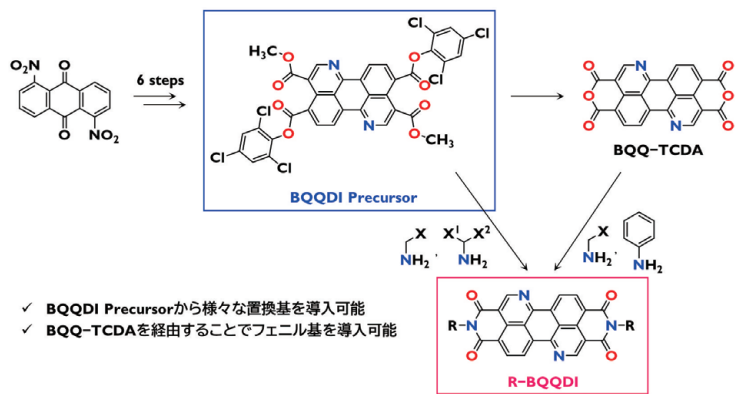


図2. BQQDI Precursor を鍵前駆体とした BQQDI 誘導体の合成スキーム

できた（ここでは閉環反応を促進するために過剰量のプロピオン酸を用いた）。さらに、類似する分枝アルキル置換基として、シクロヘキシル基置換BQQDI (Cy₆-BQQDI) の合成を試みたところ、94%の高収率で粗体が得られた。この反応において重要なポイントの一つは、隣接するエステル部位が異なる置換基を持つことである。例えば、目的の分子内反応を進行させるためにはアミドとエステルが隣接する必要がある。すなわち、分子内反応が起こる前に両方のエステルがアミド交換されてしまうと、その後の反応が極端に進行し難くなる。テトラエステル体の場合、2,4,6-トリクロロフェニルエステルはメチルエステルに比べて求電子性が高いため⁶⁾、速やかにエステル→アミド交換が起こる。一方でメチルエステルのアミド交換は有意に確認されていない。すなわち、はじめに2,4,6-トリクロロフェニルエステルのアミド交換が起こり、その後アミド窒素が分子内のメチルエステルを求核攻撃（分子内閉環反応）することで目的のBQQDIが生成される。したがって、テトラエステル体は高収率・高選択的なBQQDIの合成に適した前駆体と言える。ところで、テトラエステル体とアニリンとの反応によりフェニル基置換BQQDI (Ph-BQQDI) の合成を試みたところ、目的物の生成はほとんど確認されなかった。今後の検証が必要であるものの、これはフェニル基の共鳴効果によるアミノ基の求核性低下に起因すると推察される。一方で、BQQ-

TCDAを原料に用いると、粗収率91%でPh-BQQDIが得られた。求核性の低さにも依らず、なぜBQQ-TCDAとアニリンとの反応が進行したのか、これについても追究が必要だが、仮説の一つにイソミドからイミドへの異性化反応を経由する機構が挙げられる⁷⁾。

反応機構の解明を含めて、BQQDIの合成や新規材料開発に関する今後の展開には高い関心と研究の余地がある。フェニル基や類縁体の導入には一度BQQ-TCDAに変換する必要があるものの、テトラエステル体はあらゆる置換基を持つBQQDIの最も重要な鍵前駆体であることから、以降は“BQQDI Precursor”と称したい。

新しいBQQDI 誘導体 Cy₆-BQQDI の結晶構造と OFET 特性

BQQDI Precursorを用いた合成経路の開拓により得られたBQQDI化合物について、単結晶構造解析やOFET特性の評価をおこなった。ここでは、特に興味深かったCy₆-BQQDIについて、Ph-BQQDIと比較しながら述べる（図3）。Cy₆-BQQDIの単結晶は、ニトロベンゼンから再結晶をおこなうことで、茶色板状結晶として得られた。一方、Ph-BQQDIの単結晶は、物理気相輸送法⁸⁾により赤色板状結晶として得た。単結晶X線回折装置を用い室温で結晶構造解析をおこなったところ、Ph-BQQDIはBQQDI化合物に典型的な隣接分子間相互作用によるアンバランスなレンガ罫型（ブリックワーク）集合体構造を有することがわかった。「典型的な」とはカルボニル基の酸素 (O) とBQQ骨格中の窒素 (N) を含むC-H…OおよびC-H…N相互作用を指し、直鎖アルキル基やフェニルアルキル基を置換基としたBQQDIでも広く共通する特徴である¹⁻³⁾。一方で、Cy₆-BQQDIにもC-H…OやC-H…N相互作用の効果が示唆されるものの、それぞれに寄与するC-Hの位置が異なった。す

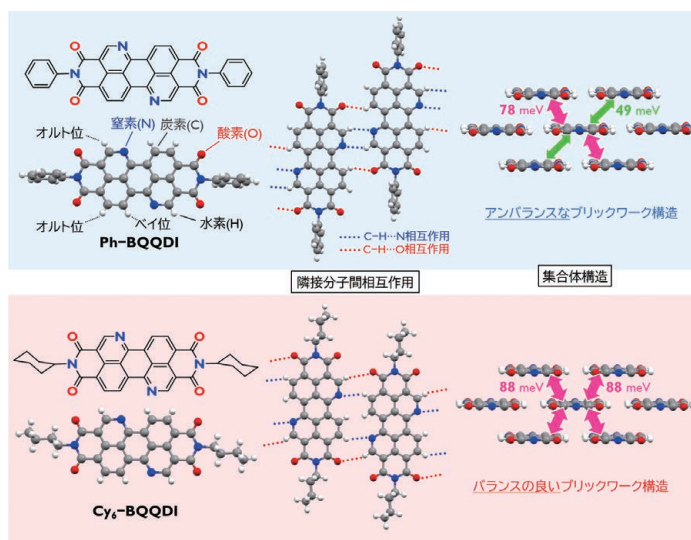


図3. Ph-BQQDI と Cy₆-BQQDI の結晶構造と LUMO 間トランスファー積分（単位：ミリ電子ボルト [meV]）

なわち、Ph-BQQDIなどにおいてO・Nはそれぞれオルト位・ベイ位のHと相互作用するが、Cy₆-BQQDIではいずれもオルト位のHと相互作用している。この違いにより、Cy₆-BQQDIはバランスの良いブリックワーク構造に積み重ねることができた。このようなバランスの取れた集合体構造は、効率の良い電子伝導に有利と考えられるため、単結晶による電子伝導性の検証を試みた。

Cy₆-BQQDIは、塗布結晶化手法であるエッジキャスト法(図4a)⁹⁾により最薄で7-8 nm(約3分子層)の薄さの単結晶薄膜を成膜することができた。金(Gold)電極を用いた単結晶OFET評価により、Cy₆-BQQDIは大気下で安定なn型OFET挙動を示し、平均1.8 cm² V⁻¹ s⁻¹(最高2.3 cm² V⁻¹ s⁻¹)の移動度が推定された(図4b-d)。BQQDIにおける我々の知見に基づくと、この値はフェネチル置換BQQDI(PhC₂-BQQDI(CAS RN® 2170835-67-1))に次ぐ優良なものである¹⁾。一方、物理気相輸送法で得られた薄板状単結晶(厚さ約200 nm)を基板に貼り付けることで作製されたPh-BQQDIの単結晶OFETは、移動度1.0 cm² V⁻¹ s⁻¹を示した。したがって、Cy₆-BQQDIはプロセス性・OFET特性共に優れたn型有機半導体であると言え、これは前に述べたバランスの良い集合体構造に起因すると考えられる。また、Cy₆-BQQDIは真空蒸着法を用いた多結晶OFETでも1.0 cm² V⁻¹ s⁻¹の高移動度が観測されている。再現性に課題が残されているものの、材料開発・デバイス応用の両面から、今後の展開が期待される。

おわりに

本稿では、高性能n型有機半導体

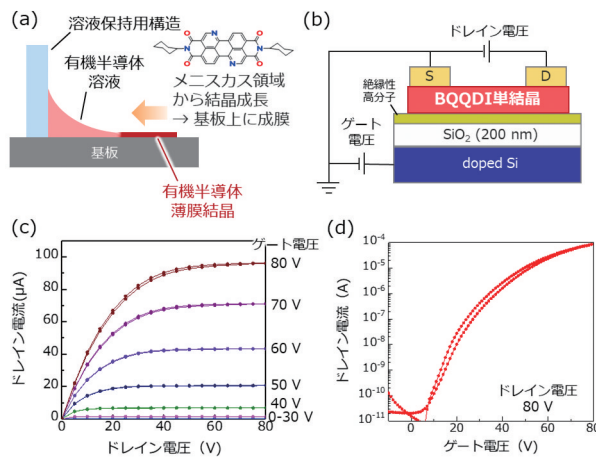


図4. 塗布結晶化法を用いたCy₆-BQQDIの単結晶OFET (a) エッジキャスト法の模式図 (b) OFET構造の模式図 S: ソース電極 (Gold) D: ドレイン電極 (Gold) (c) 出力特性 (d) 伝達特性

BQQDIを合成するための鍵前駆体として、BQQの3,9位にメチルエステル、4,10位に2,4,6-トリクロロフェニルエステルを有するBQQDI Precursorの有用性について述べた。また、BQQDI PrecursorからBQQDIに誘導する合成経路を確立したことで、電子伝導に有望な、バランスの取れたブリックワーク構造を構築するCy₆-BQQDIの発見に至ることができた。今後、BQQDI Precursorを基盤とすることでさらにバラエティーに富んだ分子構造・集合体構造を有するBQQDI誘導体の発展が見込まれる。それによって、OFETに限らない、革新的な有機半導体デバイスの研究開発に繋がることが大いに期待される。

謝辞

本稿の研究成果は、竹谷純一教授(東大)、石井宏幸准教授(筑波大)、渡辺豪講師(北里大)をはじめとする多くの共同研究者の協力のもとに得られたも

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およびCREST「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, JPMJCR21Q1)、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。

【参考文献】

- 1) Okamoto, T. *et al.* : *Sci. Adv.*, **6**, eaaz0632 (2020).
- 2) Kumagai, S. *et al.* : *Chem. Mater.*, **32**, 9115 (2020).
- 3) Kumagai, S. *et al.* : *J. Phys. Chem. Lett.*, **12**, 2095 (2021).
- 4) Usta, H. *et al.* : *Acc. Chem. Res.*, **44**, 501 (2011).
- 5) Yu, C. P. *et al.* : *Commun. Chem.*, **4**, 155 (2021).
- 6) Konishi, H. *et al.* : *Chem. Pharm. Bull.*, **66**, 562 (2018).
- 7) Mochizuki, A. *et al.* : *Polym. J.*, **26**, 315 (1994).
- 8) Kloc, C. *et al.* : *J. Cryst. Growth*, **182**, 416 (1997).
- 9) Uemura, T. *et al.* : *Appl. Phys. Express*, **2**, 111501 (2009).

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
024-19591	BQQDI Precursor	機能性有機材料用	250mg	39,000
165-28601	PhC ₂ -BQQDI	機能性有機材料用	100mg	80,000
166-28871	PhC ₃ -BQQDI	機能性有機材料用	100mg	83,000

その他のn型有機半導体材料は当社HPをご覧ください。

RF: 2~10℃保存 EF: 20℃保存 SF: 80℃保存 HF: 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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

はじめに

遺伝子導入による細胞リプログラミングは、マウスの線維芽細胞(真皮などの結合組織を構成する細胞)を筋肉の細胞に転換できるMyoD遺伝子の発見によりその端緒が開かれた¹⁾。しかし、多くの研究者の懸命な努力にもかかわらず、単独で細胞の性質を転換可能な「マスター遺伝子」はMyoD以外には見つからなかった。

2006年に、OCT4、SOX2、KLF4、c-MYCの4個の遺伝子を導入することで末梢組織を構成する細胞を人工多能性幹細胞(iPS細胞)に初期化できることが山中らにより報告された²⁾。この発見により、細胞リプログラミングを誘導するためには複数の因子を組み合わせる必要があることが強く示唆され、再生医療の分野に大きな転機をもたらすことになった。現在では、iPS細胞を経ないで体細胞を直接、別種の体細胞に変換するDirect reprogrammingや、iPS細胞の分化を外来遺伝子の強制発現によって誘導するDirected differentiationについても、複数の因子を組み合わせることで可能になったという報告が多数発表されている。

細胞リプログラミングにより作製した細胞を再生医療に使うためには、使用する遺伝子導入・発現ベクターに高度な性能が求められる。リプログラミングを均一に誘導するためには、複数の遺伝子を高効率で細胞に導入し、一定の比率で1~3週間安定に発現した後、細胞から完全に除去しなくてはならないが、このような要求をすべて満たすことができる技術は極めて限られている。本稿では、現時点で細胞リプログラミングに最も適した技術として高く評価されているステルス型RNAベクターの開発の経緯と応用の現状について解説する。

RNA ウイルスを使った遺伝子導入・発現ベクター

1973年のリン酸カルシウム法の発見によ

り、動物細胞への遺伝子導入は実用的な方法として研究現場で使われるようになった。その後、1980年代になると、現在でも広く使われているレトロウイルスベクター・アデノウイルスベクター・アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターなどの組換えウイルスベクターや、陽荷電脂質とDNAの複合体を使うLipofection法などの非ウイルスベクターによる遺伝子導入法が開発され、遺伝子治療への期待が高まった。一方で、DNAの複製中間体を持たないRNAウイルスは、一般的に細胞障害性が強いいため遺伝子導入ベクターには適していないと考えられてきた(レトロウイルスやレンチウイルスもRNAウイルスに分類されるが、逆転写により作られたゲノムcDNAが宿主のゲノムDNAに挿入されて転写される点が他のRNAウイルスとは異なる)。例えば、RNAウイルスの一種であるセンダイウイルスを基にしたベクターは、非常に強力に遺伝子発現を誘導できるものの、細胞障害性があるため持続的な発現には適していない。

筆者は、30年以上にわたり、動物細胞のゲノムDNAに遺伝情報を挿入することなく持続的な遺伝子発現を可能にするRNAベクターを開発してきた。センダイウイルスには、Clone 151 (cl.151)株という37℃で持続感染を起こす変異株が存在する^{3,4)}。筆者はこの変異ウイルスに着目し、cl.151株を単離した吉田哲也博士(現・広島大学名誉教授)との共同研究を1988年に開始した。当時はまだPCR法もDNAシーケンサーも普及しておらず、約16キロ塩基と大きなゲノムを持つセンダイウイルス変異株の研究は難航したが、2007年にはcl.151株の全長ゲノムcDNAの単離と持続感染機構の解析を報告し⁵⁾、2011年には自律複製能を欠失すると共に4個の外来遺伝子を搭載して安定に発現できるSeVdp (Defective and persistent Sendai virus)ベクターの開発に成功した⁶⁾。さらに、SeVdpベクターにOCT4、SOX2、KLF4、c-MYC遺伝子をすべて搭載すれば高効率で細胞を初期化できることが判り、持続発現型

RNAウイルスベクターによる細胞リプログラミングの原理を確立することができた。また、iPS細胞で特異的に発現しているmiR-302を使ってベクターのゲノムRNAを自動的に消去する機構も導入され⁷⁾、多くの研究室でiPS細胞の樹立のために使われてきた。

ステルス型RNAベクターの開発

SeVdpベクターの研究から、RNAゲノムを使った安定な遺伝子発現を実現するために必要な条件が明らかになった。最も重要なのはインターフェロン誘導の回避であり、cl.151株ではRNA polymeraseをコードするL遺伝子の変異によりインターフェロン誘導が低下し、細胞障害性の低減につながっていた⁵⁾。また、ウイルス粒子の構造を作るM、F、HNをコードする遺伝子をすべて欠失すると、細胞障害性が低減するだけでなく二次粒子の産生を完全に回避できることも判った⁶⁾。

一方、このベクターを使って遺伝子治療や細胞リプログラミングといった応用を進めるためには、さまざまな課題も残されていた。例えば、SeVdpベクターでは搭載できる遺伝子の構造に制限があり、ベクターの設計が複雑で製造も難しい。また、転写因子や各種レセプターを発現するためには転写レベルが高すぎることも解決すべき課題であった。そこで、SeVdpベクターの開発を通じて得られた教訓を元に、より汎用的に使えるRNAベクターの開発に着手した。その結果生まれたのが、ステルス型RNAベクター(SRV)である。

RNAウイルスがインターフェロンを強く誘導する理由の一つに、ウイルスが作るRNAの性状が動物細胞のmRNAと大きく異なるため、異物(病原体)として認識されやすいことが挙げられる。一般的にRNAウイルスのゲノムRNAのGC含量は低く、40%以下のものも少なくない。天然に存在するセンダイウイルスの遺伝情報をほぼそのまま使っているSeVdpベクター

のゲノムRNAのGC含量は約46%であるのに対し、ヒトmRNAのGC含量は約60%である。GC含量が低いRNAは細胞に異物として認識されることが知られているので⁸⁾、コドン最適化によって人工的にGC含量を高めたRNAを使ってベクターを再構築することにした。

コドン最適化によってGC含量を高める試みはレンチウイルスなどで報告されているが、コードしているタンパク質の一次構造が同じであっても改変後はウイルスとしての機能が大きく損なわれるため、ウイルスゲノムRNAの大規模な塩基配列の変更は困難とされてきた。そのため、SRVの開発に当たっては、非コード領域をヒトmRNA由来の配列で置換すると共に、コード領域の最適化を1遺伝子ずつ慎重に進め、最終的に転写と複製に必要なすべてのベクター由来の遺伝子をコドン最適化することに成功した。また搭載する遺伝子についても簡単なルールを設けて、どんな組み合わせや順番であってもカセット形式でSRVに搭載できるようにした。これらの改良の結果、より生理的なレベルの遺伝子発現をするベクターの作製に成功すると共に、搭載可能な遺伝子の数やサイズも、最大10個（最長14kbpまで）と既存の技術を大きく凌駕し、さまざまな目的に対応可能な汎用ベクターとすることができた⁹⁾。

IPS細胞の作製に最適化したステルス型RNAベクターの概要

ときわバイオ株式会社が開発し、富士フイルム和光純薬が発売しているSRVTM iPSCベクターは、iPS細胞の作製を最適化するためにさまざまな工夫が施されている。例えば、作製効率が最大になるように、初期化の素材となる細胞に合わせてベクターの遺伝子発現のレベルを変えると共に、血液細胞の初期化に適したベクター（SRVTM iPSC-2、SRVTM iPSC-4）では、SeVdp-302Lで採用されたベクター自動消去用の配列をさらに改良して搭載して

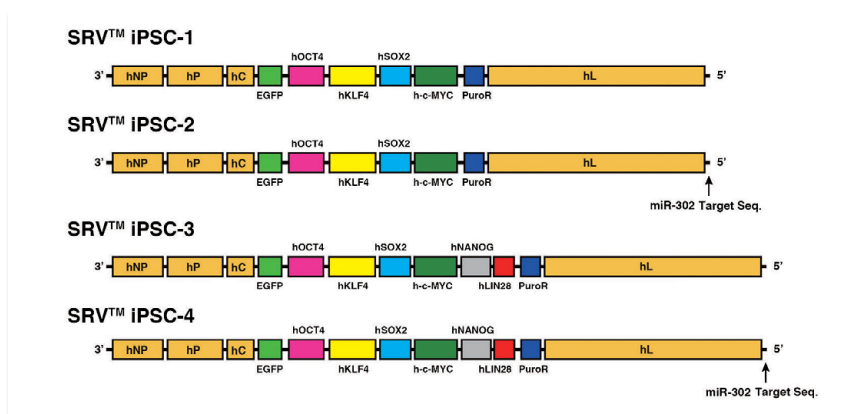


図1. SRVTM iPSCベクターのゲノム構造

SRVTM iPSC-2 および SRVTM iPSC-4 には、miR-302 に応答して自動的にベクターが消去されるシステムが搭載されている。この機構は、血液細胞からの iPS 細胞の樹立には非常に有効である。

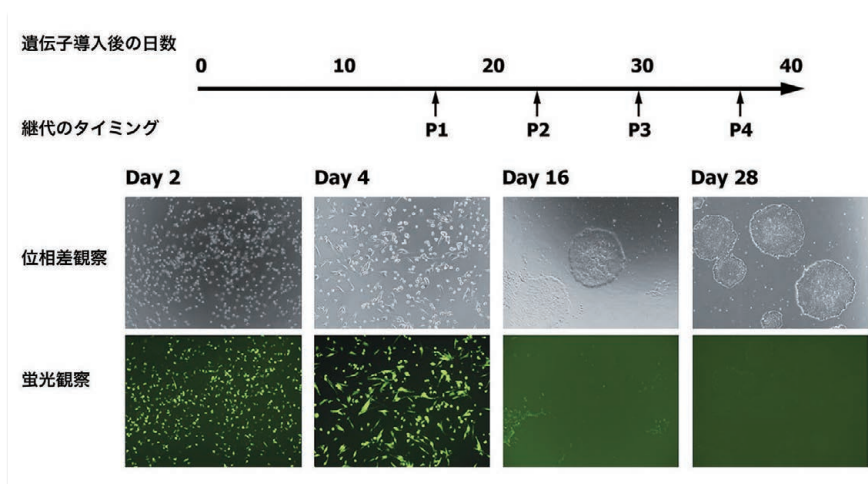


図2. SRVTM iPSC-2ベクターを使った末梢血単球からのiPS細胞の樹立

遺伝子導入後4日目ではEGFPの蛍光が観察され、ほとんどの細胞に遺伝子が導入されて発現していることが確認できる。一方、最初の継代直前の16日目では、既にiPS細胞のコロニーが出現しているが、EGFPの蛍光はほとんど見えなくなっており、ベクターが自動的に消去されているのが確認できる。

いる。また、標準的な初期化遺伝子の組み合わせ（OCT4、SOX2、KLF4、c-MYC）を搭載した4遺伝子搭載タイプに加えて、ウイスコンシン大学のグループが報告したNANOGとLIN28を追加した6遺伝子タイプも用意し、超高効率の初期化を実現した（図1）。

さらに、すべてのSRVTM iPSCベクターには遺伝子発現のマーカとして緑色の蛍光を発するEGFP（Enhanced Green Fluorescent Protein）遺伝子が搭載されており、初期化過程での遺伝子発現を

蛍光顕微鏡で簡単にモニターすることができる（図2）。このような改良により、SRVTM iPSCベクターは既存の技術を大きく超える初期化効率を実現し、*Xenofree*、*Feeder-free*という厳しい条件下でも、誰でも確実に品質の高いiPS細胞を作製することができるようになった。特に、6因子搭載SRVTM iPSCベクターは高い品質のiPS細胞が必要とされる再生医療のツールとして最適だと考えられ、iPS細胞の自動作製等の応用に向けてさらなる改良が続けられている。また、SRVに搭

載する遺伝子を替えるだけで、Direct reprogrammingやDirected differentiationなど高度な細胞リプログラミング技術にも対応が可能であり、将来は再生医療の領域で広く使われるツールとなると期待されている。

【参考文献】

- 1) Davis, R. L. *et al.* : *Cell*, **51**, 987 (1987).
- 2) Takahashi, K. and Yamanaka, S. : *Cell*, **126**, 663 (2006).
- 3) Yoshida, T. *et al.* : *Virology*, **92**, 139 (1979).
- 4) Yoshida, T. *et al.* : *Virology*, **120**, 329 (1982).
- 5) Nishimura, K. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **282**, 27383 (2007).
- 6) Nishimura, K. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **286**, 4760 (2011).
- 7) Nishimura, K. *et al.* : *Stem Cell Res.*, **23**, 13 (2017).
- 8) Vabret, N. *et al.* : *PLoS One*, **7**, e33502 (2012).
- 9) 中西真人, 飯島実: 特許公報, 特許第6770224号
- 10) Yu, J. *et al.* : *Science*, **318**, 1917 (2007).



細胞リプログラミング

血液細胞と神経細胞は共に、1個の受精卵が分裂し、後戻りできないように分化してできた細胞である。このように、私たちの体を構成する細胞はそれぞれ役割と性質が異なっていて、これまでは分化した細胞の性質が変化することは無いと考えられてきた。しかし、MyoDの発見はこの考え方を覆し、分化細胞の性質を人為的に変えられることが明らかになった。

持続感染

ウイルスが、感染した宿主細胞を殺すことなく共存している感染状態。

人工多能性幹細胞 (iPS細胞)

多能性幹細胞というのは、外胚葉 (皮膚や神経)・中胚葉 (消化管・肺・肝臓など)・内胚葉 (筋肉・血液など) のすべてに分化できる「多能性」を持った細胞で、iPS細胞の発見までは、ヒトや動物の発生過程の胚を壊して作られる胚性幹細胞 (ES細胞) が知られていた。しかし、ES細胞は、胚を壊すという倫理的問題がある上、ES細胞を分化させた細胞は免疫抑制剤を使わないと移植できない。一方、患者本人の細胞から作製した iPS細胞は、免疫拒絶を受けずに移植できるため、再生医療への応用が期待されている。

SRV™ iPSC Vectorシリーズ



SRV™ (ステルス型RNAベクター) iPSC Vectorは、iPS細胞の樹立に必要な初期化遺伝子を搭載したRNAベクターです。初期化遺伝子を1つのRNAベクター上に搭載しているためiPS細胞を高い効率で誘導できます。また、RNAベクターであるため宿主DNAゲノムへの干渉がなく、細胞内の免疫反応を回避することにより細胞質で安定した初期化遺伝子の発現を可能にしています。さらに、iPS細胞樹立後のベクター除去も容易です。

特長

- 単一RNA上にすべての転写因子が搭載され、高効率でのリプログラミングを実現
- SRV™は染色体への挿入がなく細胞質で安定に発現
- iPS細胞へのリプログラミング後、SRV™を短期間で消去することが可能
- ヒト、マウスなど幅広い宿主域の分裂細胞・非分裂細胞に関わらず遺伝子を導入
- EGFP搭載で遺伝子導入の効率や消去の様子がすぐに判定可能
- フィーダー細胞不要
- 遺伝子導入以降の過程はBSL1で扱うことが可能
※遺伝子導入はBSL2で取扱う必要があります。

コード No.	メーカーコード	品名	対象	容量	希望納入価格 (円)
388-19061	S1011624A	SRV™ iPSC-1 Vector	非営利機関	0.1mL	90,000
385-19071	S1011624P		営利機関	0.1mL	135,000
383-19131	S1011624T		トライアル	0.01mL	20,000
382-19081	S1011694A	SRV™ iPSC-2 Vector	非営利機関	0.1mL	90,000
389-19091	S1011694P		営利機関	0.1mL	135,000
380-19141	S1011694T		トライアル	0.01mL	20,000

※本品のご購入にあたっては「使用承諾書」の提出をお願いしています。

iPS細胞の作製効率

ベクター名	iPSC-1	iPSC-2	iPSC-3	iPSC-4
線維芽細胞	5%	—	20%	0.8%
末梢血単球、 末梢血単核球	—	0.05%	—	0.2%
CD34 陽性 細胞	9%	17%	8%	18%
推奨する標 的細胞	線維芽細胞	末梢血単球・ 単核球、CD34 陽性細胞	線維芽細胞	末梢血単球・ 単核球、CD34 陽性細胞

作製効率は本品の実験プロトコルを用いたFeeder-free条件下でのデータです。他の細胞をiPS細胞誘導の親細胞として用いる場合は、プロトコルの最適化を検討していただく必要があります。

コード No.	メーカーコード	品名	対象	容量	希望納入価格 (円)
388-19701	S1011626A	SRV™ iPSC-3 Vector	非営利機関	0.1mL	160,000
384-19661	S1011626P		営利機関	0.1mL	240,000
385-19711	S1011626T	トライアル	0.01mL	40,000	
381-19671	S1011696A	SRV™ iPSC-4 Vector	非営利機関	0.1mL	160,000
388-19681	S1011696P		営利機関	0.1mL	240,000
385-19691	S1011696T	トライアル	0.01mL	40,000	
384-19041	S0011590A	SRV™ control	非営利機関	0.1mL	30,000
381-19051	S0011590P	Vector	営利機関	0.1mL	45,000

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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

細胞内アセチルCoAを活性化して可視化する蛍光検出プローブ

東京大学大学院 薬学系研究科 山次 健三、金井 求

◆はじめに

生体分子は様々な化学修飾を受けることによって多様な機能を発揮する。例えば、生体機能の中心を担うタンパク質は翻訳後修飾を受けることで、限られたゲノム情報（～2万5千の遺伝子）から100万以上のプロテオームを形成している。その翻訳後修飾の代表がタンパク質リジン残基のアセチル化であり、アセチル化酵素がアセチルCoAを唯一のアセチル化剤として用いてヒストンをはじめとする様々なタンパク質をアセチル化し、遺伝子転写調節から代謝調節に至るまで広範な生命現象に重要な役割を果たしている¹⁾。最近では、アルコールの摂取によって生じた酢酸が脳内でアセチルCoAへと変換され脳細胞のヒストンアセチル化を亢進することで学習や記憶に関連する遺伝子の転写を促進することが報告されるなど²⁾、生体の環境応答においてもアセチルCoAが重要な役割を担っていることが分かってきた。したがって、細胞内のアセチルCoAを可視化できるプローブは有用な分子生物学ツールになることが期待されるが、そのような手法は存在しなかった。

本稿では、我々が開発した細胞内アセチルCoA検出蛍光プローブRH-NH₂を紹介する³⁾。

◆RH-NH₂蛍光プローブの設計

細胞内のアセチルCoAを蛍光シグナルとして検知するには、アセチルCoAにより構造変化が誘起され、蛍光強度が増大する分子が必要である。そこで、蛍光プローブとともにアセチル基転移促進剤を用いることで、細胞内でアセチルCoAから蛍光プローブへとアセチル基を転移し、それにより蛍光強度を増すことが出来ないかと考えた。アセチルCoAは主にミトコンドリアで産生されるため、ミトコンドリアに局在することが報告されていたN,N,N',N'-テトラメチルローダミンを蛍光プローブの母骨格に採用し⁴⁾、そのアミノ基がアセチル化を受けること

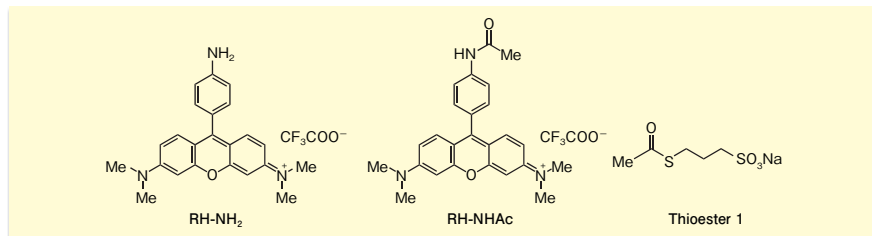


図1. 細胞内アセチル CoA 可視化蛍光プローブ RH-NH₂

蛍光プローブ RH-NH₂、そのアセチル化生成物 RH-NHAc、アセチル CoA 等価体 Thioester 1

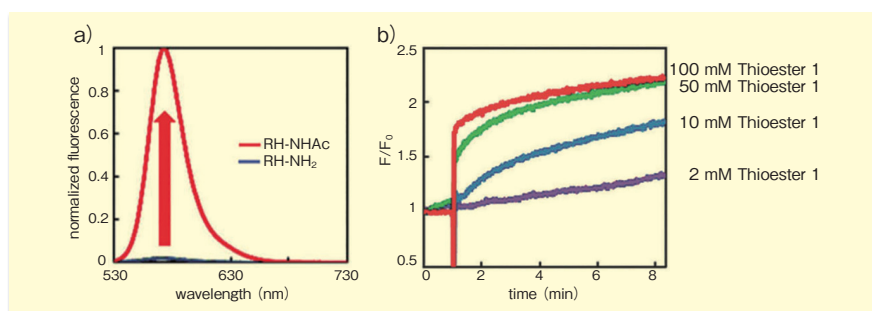


図2. RH-NH₂の蛍光特性

a) RH-NH₂のアセチル化による蛍光強度の増大（励起波長 520 nm）。

b) アセチル基転移促進剤 PBu₃の添加による RH-NH₂の蛍光増大の時間変化。

でPhotoinduced-electron transfer (PET) メカニズムが解除されることにより蛍光強度が増大する蛍光プローブRH-NH₂を設計した（図1）。RH-NH₂は546 nmに最大吸収波長（ $\epsilon = 71400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ）と570 nmの最大蛍光波長を有し、そのアセチル化体であるRH-NHAc（図1）は553 nmの最大吸収波長（ $\epsilon = 35500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ）と572 nmの最大蛍光波長を有した。PBS 緩衝液中（1%DMSO）での蛍光量子収率はRH-NH₂が 4.9×10^{-4} であるのに対し、そのアセチル化体であるRH-NHAcは0.12を示し、520 nmの励起時においておよそ50倍の蛍光強度を示した（図2a）。したがって、RH-NH₂はそのアミノ基がアセチル化を受けることによって蛍光強度が増大するturn-on型の蛍光プローブであることが示された。

◆アセチル基転移促進剤によるRH-NH₂の蛍光強度増大

次に、アセチルCoAからRH-NH₂へのアセチル基の転移を促進する反応促進剤の検討を行った。複数の求核触媒

を検討したところtributylphosphine (PBu₃) が最も効率よくRH-NH₂へのアセチル基転移を促進できると分かった。図2bにはアセチルCoAと同じチオエステルであるThioester 1（図1）をアセチル化剤、PBu₃を反応促進剤として用いた時の、RH-NH₂の蛍光強度の時間変化を示す。RH-NH₂とThioester 1存在下、測定開始1分後に反応促進剤であるPBu₃を添加することで速やかな蛍光強度の増大が見られた。その増大の程度は2～3倍であり、RH-NH₂が完全にアセチル化された際の50倍の蛍光強度の増大（図2a）と比べると低いものの、mMオーダーのアセチルCoAを蛍光検出できることが分かった。

◆細胞内アセチルCoAの可視化

HeLa S3細胞をRH-NH₂（2 μM ）で処理したところ、予想通りミトコンドリアに局在して弱い蛍光を発する様子が観察された。このままでは蛍光強度の増大は見られなかったが、ここにアセチル基転移促進剤であるPBu₃（5 mM）のDMSO溶液を加えたところ、1分以

内に明らかな蛍光強度の増大が見られた (図3)。これは反応促進剤である PBU_3 がアセチルCoAを活性化してミトコンドリアに局在しているRH-NH₂プローブをアセチル化し、蛍光強度の増大が起こったものと考えられる。なお、 PBU_3 (5 mM) やRH-NH₂ (10 μM) の添加では細胞毒性やミトコンドリアの膜電位変化が生じないことを確認している。以上より、RH-NH₂は生細胞でアセチルCoAを可視化するこれまでにない有用な蛍光プローブとなることが示された。

◆おわりに

冒頭で述べたように、タンパク質のアセチル化は生体機能調節を担う重要な細胞内化学反応である。細胞内タンパク質のアセチル化レベルは細胞内に存在するアセチルCoAの量によって変動することが知られており⁵⁾、本研究で開発したアセチルCoA検出蛍光プ

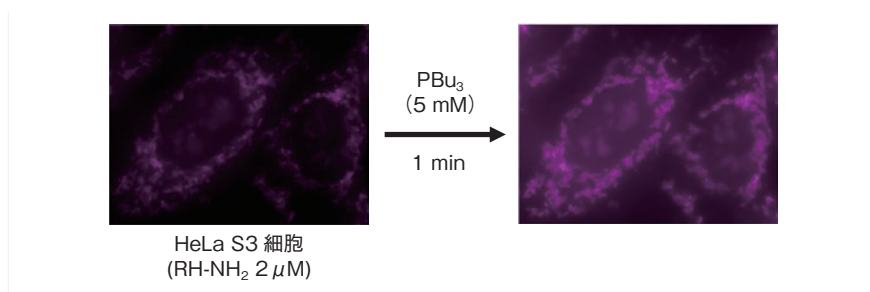


図3. RH-NH₂による細胞内アセチル CoA の蛍光検出

ローブRH-NH₂はタンパク質のアセチル化修飾が有する生物学的機能を解析する有用なツールの一つとなることが期待される。さらに、細胞内の狙ったタンパク質にアセチル化修飾を人為的かつ選択的に導入することができれば、それも有用なツールになるに違いない。我々は化学触媒を用いたヒストンの位置選択的アセチル化とエピゲノムへの介入にも成功しており⁶⁾、これらの化学的手法が細胞内翻訳後修飾解

析の有用なツールや新たな医薬シーズとなることを期待している。

【参考文献】

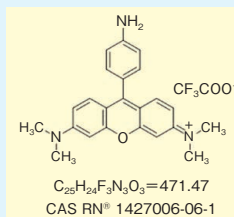
- 1) Zhao, S. *et al.* : *Science*, **327**, 1000 (2010).
- 2) Mews, P. *et al.* : *Nature*, **574**, 717 (2019).
- 3) Komatsu, H. *et al.* : *Chem. Commun.*, **49** (28), 2876 (2013).
- 4) Dickinson, B. C. *et al.* : *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **14** (1), 50 (2010).
- 5) Weinert, B. T. *et al.* : *Mol. Syst. Biol.*, **10** (1), 716 (2014).
- 6) Fujiwara, Y. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118** (4), e2019554118 (2021).

細胞内のアセチルCoAを検出!

RH-NH₂

本品は、反応促進剤としてトリブチルホスフィン (PBU_3) を添加することによって、細胞内のアセチルCoAを検出する蛍光プローブです。アセチルCoAのアッセイに、ぜひご活用下さい。

Wako



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 181-03521	RH-NH ₂ [F]	細胞生物学用	1mg	25,000

関連製品

細胞解析 蛍光試薬シリーズ

過酸化水素特異的蛍光プローブ

当社では、細胞・細胞小器官などを特異的に標識する蛍光プローブをラインアップしています。細胞メカニズムの可視化にご利用いただけます。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
028-17811	BES-H ₂ O ₂ -Ac	細胞生物学用	1mg	27,500
024-18751	BES-H ₂ O ₂ (Cell-impermeant)	細胞生物学用	1mg	27,500

当社では、さまざまな生体分子に対する蛍光プローブを幅広くラインアップしています。

詳細は当社 HP をご覧下さい。

試薬事業トップ→ライフサイエンス→透明化試薬 / イメージング→蛍光プローブ (生体分子)

蛍光プローブ 和光

検索

第3回 キレート樹脂濃縮法による環境水試料の前処理法における注意点

環境省 環境調査研修所 藤森 英治

1. はじめに

誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) は、極微量レベルの多元素同時分析が可能であり、汎用的な分析機器のうち最も高感度な元素分析法である。環境分析の分野においても、コリジョン・リアクションセル技術の発展に伴い、その適用範囲は急速に拡大している。イミノ二酢酸系キレート樹脂を用いる固相抽出法 (キレート樹脂濃縮法) は、遷移金属類の多元素濃縮とアルカリ・アルカリ土類金属の除去が同時に達成できることから、ICP-MS測定のための環境水試料の前処理法として広く利用されてきた。公定分析法においても、JIS K0102「工場排水試験方法」の2013年の改正においてキレート樹脂濃縮法が採用されたことから、今後ますますその適用範囲が拡大することが期待される。ただし、キレート樹脂濃縮法を実際に環境水の分析に適用する際には、様々な注意点がある。そこで本稿では、著者の経験から、試料の前処理、ICP-MS測定におけるスペクトル干渉への対策、標準液の調製における注意点について解説する。

2. キレート樹脂濃縮法を環境水に適用する際の共存キレート剤の影響

前述したように、キレート樹脂濃縮法は遷移金属類の多元素濃縮が可能であり、吸着時のpHを4.0～6.0程度に調整すれば、分析対象元素をほぼ定量的に回収可能であるとみなされている。ところが、著者が下水放流水を含む河川水試料にキレート樹脂濃縮法を適用したところ、いくつかの元素で回収率の低下が認められた。様々な検討の結果、現状では排水に含まれるエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 等のキレート剤が原因であると考えている¹⁾。

図1は、Presep® PolyChelate (以下、Presep®) を用いてFe、Co、Ni、Cu、

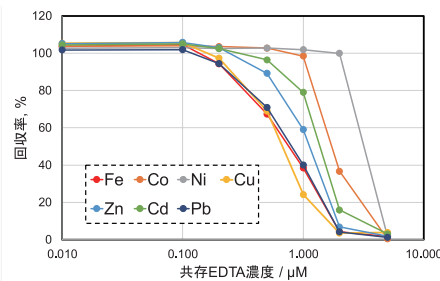


図1. 共存 EDTA 濃度による金属類の回収率の変化

Zn、Cd、Pb各10μg/L混合溶液を濃縮する際に、共存EDTA濃度を変化させた際の回収率をまとめたものである。なお、Presep®は操作性を改善するために、写真上の3mLのシリンジから写真下の12mLの空リザーバへ再充填して使用している。図1からわかるように、共存EDTA濃度が0.1μMを超えると各元素の回収率の低下がみられ、5μM共存した場合にはすべての元素の回収率が4%未満となった。キレート剤共存による回収率低下が問題となる場合は、試料の高温酸処理が効果的である。様々な検討により、試料50mLに対して硝酸2.5mLと過酸化水素1mLを添加し、170℃以上で4時間加熱することにより、共存EDTA等の影響が除去できることが分かった¹⁾。このように、EDTA等のキレート剤を含む工場排水や生活排水、またそれらが流入する河川水や沿岸海水等にキレート樹脂濃縮法を適用する際には、必ず添加回収試験を実施し、回収率の低下が認められた際には適切な前処理 (酸処理等) が必要である。

3. カドミウム測定におけるモリブデンのスペクトル干渉

イミノ二酢酸系キレート樹脂濃縮法においては、一般的な遷移金属の回収に適したpH 4.0～6.0において、Mo等のオキソ酸陰イオン生成元素の回収率が悪いことが欠点の一つとして挙げられる。このような欠点を補完するために、様々な改良型イミノ二酢酸系キ



写真 12mL空リザーバに再充填した固相カラム

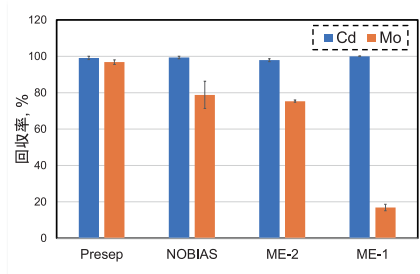


図2. 固相カラムによるCd及びMoの回収率の違い

レート樹脂が市販されており、その中でもPresep®は遷移金属類とMoが同一のpHで回収可能であることが大きな特徴の一つに挙げられる。図2には、pH 5.0におけるCd及びMoの回収率について、市販の様々な固相カラム (日立ハイテック製NOBIAS PA1 (NOBIAS)、ジーエルサイエンス製InertSEP® ME-2 (ME-2)、InertSEP® ME-1 (ME-1)) の比較を示した。図1からも明らかのように、Presep®はCdとMoが同一のpH条件 (pH 5.0) で定量的に回収可能である。

ところが、この特性がICP-MSによる極微量レベルのCd分析において問題となることがある。ICP-MSによるCdの測定では、Moの酸化物イオンによる多原子イオン干渉 (⁹⁵Mo¹⁶O→¹¹¹Cd, ⁹⁸Mo¹⁶O→¹¹⁴Cd) が知られている。例えば、海水試料にはMoが約10μg/L含まれており、極微量レベル (ng/Lレベル) のCdの測定の際には、MoOによる干渉が無視できないレベルとなる。このような場合には、数学的補正による多原子イオン干渉の補正が必要

表1. 数学的補正の有無による沿岸海水中Cdの測定結果の違い

干渉補正あり	干渉補正なし
10.5 ± 0.2	16.2 ± 0.2

(単位 ng/L)

となる²⁾。一例として、Presep[®]を用いて沿岸海水を40倍濃縮し、ICP-MSで測定した際のCdの測定結果を紹介する。この沿岸海水試料にはMoが約10μg/L含まれており、40倍濃縮した際の濃縮液中濃度(測定溶液中濃度)は約300μg/Lとなった。表1は、沿岸海水試料をPresep[®]で40倍濃縮した際のCdの測定結果で、MoOの干渉補正なしでは16.2ng/Lとなったのに対し、補正ありでは10.5ng/Lであり、この差分である5.7ng/LがMoOに起因する多原子イオンによる干渉濃度である。なお、Cd濃度が1ng/Lレベルの外洋海水の場合には、数学的補正が適用困難であるため、化学分離によるMoの選択的除去が必須となる。Moの選択的除去法については文献^{2,3)}を参照されたい。

4. ICP-MS 測定用多元素標準液調製における注意点

ICP-MS測定用の多元素標準液を調製する際には、①スペクトル干渉が問題となる元素の混合を避ける(MoとCdなど)、②沈殿生成の恐れがある元素の混合を避ける(AgとClなど)、③濃度レベルの大きく異なる元素の混合を避ける(mg/Lとμg/Lなど)、④硝酸酸性溶液以外で安定な元素は硝酸による希釈は測定直前に実施する、等の注意点がある。ここでは、①のスペクトル干渉への留意点について、希土類元素(ここではLa~Luのランタノイド)を例に紹介する。ICP-MSを用いる希土類元素の定量の際には、希土類元素相互のスペクトル干渉(同重体イオン、酸化物イオン及び水酸化物イオン)に留意する必要がある。希土類元素の測定の際には、まず同重体干渉がない質量数(m/z)を選択する。さらに、酸化物イオンや水酸化物イオン等

表2. 希土類元素測定の際に問題となる主な多原子イオン干渉

測定イオン	干渉イオン
¹⁵¹ Eu	¹³⁷ Ba ¹⁶ O
¹⁵³ Eu	¹³⁵ Ba ¹⁶ O
¹⁵⁷ Gd	¹⁴¹ Pr ¹⁶ O, ¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ¹ H
¹⁵⁹ Tb	¹⁴³ Nd ¹⁶ O
¹⁶³ Dy	¹⁴⁷ Sm ¹⁶ O, ¹⁴⁷ Nd ¹⁶ O
¹⁶⁵ Ho	¹⁴⁹ Sm ¹⁶ O
¹⁶⁶ Er	¹⁵⁰ Nd ¹⁶ O, ¹⁵⁰ Sm ¹⁶ O
¹⁶⁹ Tm	¹⁵³ Eu ¹⁶ O
¹⁷² Yb	¹⁵⁶ Gd ¹⁶ O
¹⁷⁵ Lu	¹⁵⁹ Tb ¹⁶ O, ¹⁵⁸ Gd ¹⁶ O ¹ H

の多原子イオン干渉は、数学的補正により補正する必要がある。ICP-MSによる希土類元素の測定時に問題となる主な多原子イオン干渉は表2の通りである。このように、多原子イオン干渉が問題となることがあらかじめ判明している場合には、それらの元素の混合は避けるべきである。一例として、著者は検量線作成用標準液を以下の4グループに分けて混合している(グループI; La, Ce, Lu, グループII; Pr, Nd, グループIII; Sm, Eu, Gd, Tb, グループIV; Dy, Ho, Er, Tm, Yb)。希土類元素に限らず、ICP-AESやICP-MS用の多元素混合液が市販されているが、多原子イオン干渉の有無について確認し、必要に応じてその組み合わせを決定することが重要である。

5. おわりに

本稿のまとめにかえて、キレート樹脂濃縮/ICP-MSの応用例として、多摩川河川水中希土類元素の分析結果を紹介する。希土類元素は、環境中における元素の循環や分配挙動の指標として利用できるため、その精密分析が必要となる。

多摩川には下水放流水が多量に流入するため、EDTA等のキレート剤共存による回収率低下が懸念される。そこで、試料200mLに硝酸10mLと過酸化水素4mLを添加し、200℃で4時間加熱処理した。分解後の試料はPresep[®]を用いて40倍濃縮を実施した。ICP-MS

表3. キレート樹脂濃縮/ICP-MSによる多摩川下流水中希土類元素の分析結果

元素	測定値 (ng/L)
La	4.75 ± 0.08
Ce	4.27 ± 0.08
Pr	0.973 ± 0.027
Nd	4.87 ± 0.09
Sm	1.22 ± 0.03
Eu	0.353 ± 0.008
Gd	8.87 ± 0.18
Tb	0.343 ± 0.007
Dy	3.09 ± 0.03
Ho	1.16 ± 0.02
Er	5.31 ± 0.12
Tm	1.04 ± 0.02
Yb	9.44 ± 0.10
Lu	2.02 ± 0.02

測定の際には前節の4グループの標準液を用い、スペクトル干渉の数学的補正を施して測定値を得た。表3は、多摩川最下流の河川水中希土類元素濃度の測定結果である。表からわかるように、試料中ng/Lと極微量レベルである希土類元素を精度よく測定することが可能となった。図3は、希土類元素存在度パターンと呼ばれるもので、試料中の希土類元素濃度を基準物質(ここでは頁岩)で規格化したものを原子番号順にプロットしたものである。詳細な説明は割愛するが、このパターンは希土類元素の分布の特徴を議論する際に使用されるもので、多摩川河川水では、下流においてGdの正異常が大きくなることと、プロットの右上がり傾向が大きくなることが特徴である¹⁾。

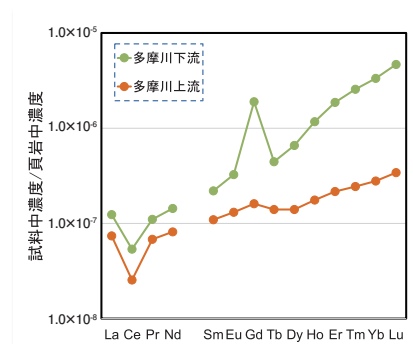


図3. 多摩川河川水の希土類元素存在度パターン

このように、キレート樹脂濃縮法は、ICP-MSを用いる環境水中のng/Lレベルの元素の精密分析のための前処理法として、非常に有用な方法であるが、本稿で紹介したような様々な「落

とし穴」がある。ここで紹介した内容は、著者の実際の経験から明らかになった一部であり、試料や測定装置により問題点やその対策法は異なるので、皆様もご注意いただきたい。

【参考文献】

- 1) Fujimori, E. et al. : *Chemosphere*, **214**, 288 (2019).
- 2) 藤森英治：分析化学, **65**, 275 (2016).
- 3) 高久雄一 他：分析化学, **65**, 399 (2016).

関連製品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
296-33491	Presep® PolyChelate (250mg/3mL)	試料前処理用	10本×5	75,000
217-01651	超純水	ICP分析用	1L	6,000

ICP分析用単元素標準液 ラインアップ状況

オスmium標準液 (Os 1000) が近日発売予定となります。
 ご興味のある方は当社代理店・特約店もしくは当社営業員へお問合せ下さい。
 ※青塗りが現在販売中の元素です。

H																	He
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												

金属標準液 総合カタログ配布中!

- ICP分析用、JCSS、原子吸光分析用 製品ラインアップを追加!
- 金属標準液の選び方や混合標準液を調液する際のポイントを収載!

カタログをご希望の場合は、当社または当社代理店営業員までお問合せ下さい。

なお下記URLからも閲覧、ダウンロード可能です。

https://labchem-wako-pages.fujifilm.com/metalstandard_catalogDL01.html



☐₂…2~10℃保存 ☐₂₀…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、2022年1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3回 ヒト iPS細胞由来肝細胞を用いた *in vitro* 肝評価系構築の可能性

崇城大学 生物生命学部 石田 誠一

はじめに

ヒト iPS細胞由来の肝細胞は、iPS細胞の研究初期の段階から多くの分化誘導法が報告されているにもかかわらず、創薬への応用が進まない細胞の一つとされてきた。筆者はAMED再生医療実用化研究事業「ヒト iPS細胞由来肝細胞を用いた医薬品の肝毒性を予測・評価する *in vitro* 試験法の開発研究」(2017年-2019年)において、iCell-hep等のiPSC細胞由来肝細胞の肝毒性評価項目への適用性について検討を行った。班での研究を開始するにあたり創薬の現場におけるヒト iPS細胞由来肝細胞を用いた *in vitro* 肝毒性評価系のユーザーニーズを調査したところ、

- 反復投与細胞障害性試験
- 薬物代謝酵素P450-CYP誘導性試験
- 胆汁排泄阻害試験
- 脂肪肝誘導性試験

が挙げられた。本稿では、この研究班で得られた知見をもとに、特に脂肪肝誘導性試験へのiCell-hepの適用性を紹介する。また、iPS細胞由来肝細胞の創薬応用の可能性について最後に議論する。

iCell-hepを用いた脂肪蓄積評価

まず、CDI社が推奨する培養法にてiCell-hepを培養し、培養期間の最後1日の培地にオレイン酸を添加した(図1 A)。得られた培養細胞を常法に従いOil Red O染色を行い、脂肪の蓄積を観察した(図1 B)。その結果、オレイン酸未添加の細胞では脂肪の蓄積が観察されず、オレイン酸添加細胞で明瞭な脂肪蓄積が観察された。我々の研究室の培養経験では、ヒト凍結肝細胞などヒト組織に由来する肝細胞ではオレイン酸未添加でも脂肪蓄積が観察されることが多く、陰性対照を置きにくいという欠点があった。その点、iCell-hepでは陰性対照でOil Red O染色が低いため、脂肪蓄積の観察が容易になると考えられる。そこで次に脂肪蓄積のうちリン脂質の合成と蓄積につ

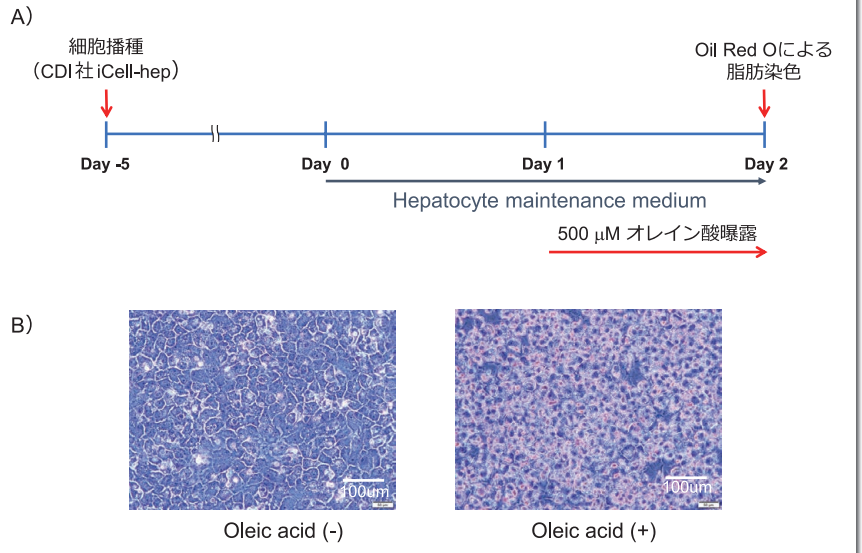


図1. 脂肪蓄積評価

A) 培養スケジュール。

B) iCellヘパトサイトへの脂肪蓄積。オレイン酸を培地に添加し、1日間培養することによって全ての細胞で脂肪滴が観察された。

いて検討を行った。結果を図2 Aに示す。細胞を一定期間培養後、Propranololに2日間曝露した。Propranololはリン脂質蓄積を誘導することが知られている薬剤である。得られた細胞をLipidTOX (Thermo Fisher Scientific)を用いて染色し、中性脂肪とリン脂質を観察したところ、リン脂質の染色像が特異的に得られた。本結果はiCell-hepに脂肪蓄積性能があるだけでなく、リン脂質蓄積を誘導する薬剤によりリン脂質合成能を有していることを示唆している。さて、AMED研究班での検討項目である反復投与細胞障害性試験の開発により、iCell-hepは培地を工夫することで30日間の長期の培養維持が可能であることが判明してきた¹⁾。そこで、この培養法を用いて、反復投与によりリン脂質症を誘導することが知られているAmiodaroneの長期曝露を試みた。図2 Bに示すように、長期曝露終了時にリン脂質の蓄積が確認できた。以上、二つの実験で示してきたように、iCell-hepは凍結肝細胞などでは観察しにくい脂肪蓄積の検証が容易なこと、また、長期間培養維持で

きるという特性を活かすことで反復投与によるリン脂質の蓄積を検討できる培養系である点で、冒頭に挙げたユーザーニーズのうち脂肪肝誘導性試験について有用な細胞であると考えられる。

非アルコール性脂肪肝炎：NASH

非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis : NASH) は、非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) から進行した肝炎の病態であり、その4人に1人は肝硬変や肝細胞癌を引き起こす可能性がある²⁾とされている。現在NAFLDの世界における罹患率は約25%に達し、増加の傾向にある。2021年8-9月に開催されたthe World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciencesにおいて“NASH, the liver disease of the 21st century?”と題したシンポジウムが組まれた例が示すように医療や創薬の現場において注目を集める現代の疾患となっている。NASHやそれに先立つNAFLDの引き金は肝臓における脂肪蓄積であ

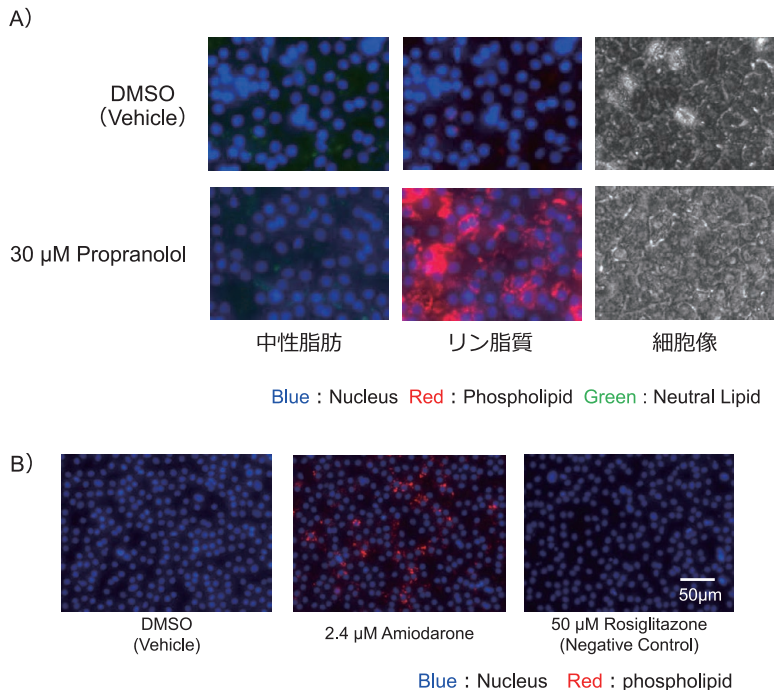


図2. 化合物によるリン脂質の誘導

- A) リン脂質蓄積を誘導することが知られている Propranolol に曝露することで、リン脂質が特異的に蓄積することが示された。LipidTOX (Thermo Fisher Scientific) による中性脂肪とリン脂質染色像。iCell ヘパトサイトがリン脂質の合成能を有していることを示唆している。Propranolol：リン脂質蓄積を誘導することが知られている。
- B) Amiodarone への反復曝露によるリン脂質の蓄積
21日間（播種後9日目から30日目まで）の Amiodarone への反復曝露によりリン脂質が蓄積されていた。Amiodarone：反復投与によりリン脂質症を誘導することが知られている。Rosiglitazone：Negative Control

る。上記で述べたような iCell-hep の脂肪蓄積性の易観察性はこのような疾患に対する治療薬開発にとって有益な *in vitro* 細胞アッセイ系を提供できる可能性があると考えられる。

肝星細胞との共培養系： MPS への展開

NASHに伴う病態の進行は肝臓の線維化を伴い、肝硬変へと移行していく。肝臓の線維化において重要な役割を担うのが、肝星細胞である。肝星細胞は健常な肝臓においてはビタミンA貯留細胞として機能している（静止期

星細胞）が、一旦肝障害が起こると、肝障害による刺激が引き金となり線維芽様細胞に変化し、コラーゲンを産生するようになる（肝星細胞の活性化）。その結果として肝臓の線維化が惹起される。肝星細胞は生体環境から取り出し *in vitro* 培養に供すると活性化してしまい、静止期星細胞を得るのが困難であることが知られている。我々の研究室では、一旦活性化してしまった星細胞を底面が多孔質膜の3次元培養カルチャーインサートで培養することで脱活性化し、静止期星細胞に近い形質を示すことを見いだしている³⁾。こ

の星細胞の活性化-脱活性化をコントロールできる培養系は、脂肪蓄積を誘導できる iCell-hep と共培養することで、NAFLD や NASH の治療薬開発の試験系として有望であると考えている。このような共培養系には現在開発が進む MPS (microphysiological system: 生体模倣システム⁴⁾) が適すると考え、現在検討を進めている。

おわりに：iPSC-hep の適用範囲

冒頭で、iPS細胞由来の肝細胞は創薬応用への展開が進んでいないことを述べた。その一つの原因が、iPS細胞由来の肝細胞における薬物代謝酵素 P450-CYP の活性が高くない点となっているのは否めない。しかし、一方で本稿で述べたように、iCell-hep は30日間の培養維持が可能であり、脂肪蓄積の易観察性や薬物によるリン脂質合成能も有している。また、本誌で以前紹介させていただいたように、毛細胆管の形成においては従来の凍結肝細胞のサンドイッチ培養より優れた能力を持っている¹⁾。本シリーズの主題である“ヒト iPS 細胞由来分化細胞の創薬応用”について、特に iCell-hep の創薬応用を考えていく上では、*in vitro* 細胞アッセイにおけるヒト肝細胞利用についての Context of Use を十分に吟味し、細胞の適用範囲をしっかりと定めることで、その可能性を見直すことが出来ると考える。その議論を今一度することで、iCell-hep の創薬応用が広がることを期待している。

【参考文献】

- 1) 石田誠一：和光純薬時報，89，(1)，6 (2021)。
- 2) Loomba, R. et al.: *Cell*, 184, 2537 (2021)。
- 3) Horiuchi, S. et al.: *AATEX*, 23, 53 (2018)。
- 4) Ishida, S.: *Academic Press*, pp.181-213 (2020)。

当社では、iCell® 製品を多数取扱っています。
製品詳細及びアプリケーション情報は当社 HP をご覧下さい。

iCell Products

検索

第3回 BDNF と精神疾患との関与 (BDNF 経路を介した可塑性の制御と精神疾患)

ヘルシンキ大学 ニューロサイエンスセンター 梅森 十三

はじめに

これまでに、BDNF経路は神経可塑性の制御に関わっていることを述べた。可塑性が高まると、学習や環境の変化に適応して、神経回路は構造的、機能的に再編成される。病態生理学的な（前）臨床研究により、統合失調症やうつ病などの精神疾患において、BDNFおよびその受容体であるTrkBを介したシグナル伝達の異常が報告されている。また近年、抗うつ薬がBDNF/TrkBシグナル伝達を通じた神経可塑性を調節するメカニズムが解明されている。今回はBDNF/TrkB経路の異常と精神疾患の関係、加えてこの経路を標的とした神経精神疾患様の症状の改善について、最新の研究結果を交えながら解説する。

統合失調症における BDNF/TrkB 経路の異常

BDNF経路は、胎生期や臨界期の脳の発達だけでなく、成体においても海馬や大脳皮質神経細胞の可塑性や生存の制御に重要な役割を持っている。したがって、BDNF経路の異常が統合失調症患者の脳の変化に関わっている可能性は想像に難くない。実際に統合失調症のモデル動物ではBDNFの調節異常が見られ、TrkBの前脳特異的ノックアウトマウスでは運動亢進や常同行動、認知障害などの統合失調症様の行動が見受けられる。また、統合失調症患者の死後脳の解析では、大脳皮質領域と海馬においてBDNF濃度の減少が見られるが前部帯状皮質では上昇していることが報告されている。これらのBDNFの発現異常が、統合失調症患者の神経発達と神経可塑性の異常をもたらしている可能性が示唆されている^{1,3)}。

気分障害における BDNF/TrkB シグナル伝達異常

BDNFのメッセンジャー RNAとタンパクは、自殺者や大うつ病性障害（うつ病）患者の死後脳、特に海馬と扁桃体で減

少していることがわかっている⁴⁾。また、うつ病患者や自殺者の末梢血単核細胞において、BDNF遺伝子プロモーターのDNAメチル化が増加することも示されており、BDNF発現の調節不全が示唆されている⁵⁾。さらに、第2回でも説明した通り、ヒト血清では血小板由来と考えられるBDNFが高いレベルで検出される。しかし興味深いことに、うつ病患者の血清または血漿BDNFレベルが低く、抗うつ薬による治療が成功した後に元のレベルに戻ることが観察されている。同様に血清BDNFについても、未治療のうつ病患者は、治療に成功した患者や健常群と比較して、有意な減少が見られている^{4,6)}。また、血清のBDNFとproBDNFの比率は健常群に比べて双極性障害では高く、うつ病では低くなっていることから、両者を区別できるマーカーになると期待されている^{7,8)}。ただしこれらのBDNFレベルは、上述の通り統合失調症^{1,3)}で低下しており、自閉症では上昇と低下の両方が報告されている⁹⁾。また、血清BDNF含量は個体間および個体内でのばらつきが大きいことから、信頼性や疾患特異性についてはさらなる検討が必要と考えられる。

BDNFに加えて、TrkBのタンパクおよびmRNAのレベルもうつ病患者の死後脳で減少し、TrkBの遺伝子変異は自殺に関連していることが報告されている。さらに、活性化状態であるリン酸化TrkBは、うつ病患者の脳サンプルで減少することがわかっている⁴⁾。

BDNF と精神疾患の遺伝的関連

BDNFの66番目のアミノ酸残基はバリンが大部分であるが、Caucasoidでは25%から50%がこの位置にメチオニンを持っている (Val66Met多型)^{10,11)}。この多型はうつ病や統合失調症などの精神疾患だけでなく、多発性硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患の危険因子である可能性が示唆されている^{12,13)}。うつ病においては、この多型は幼少期の虐待や貧困、成人期の慢性ストレスを原因とするうつ病への発症しやすさ

に関与しているとの報告がある¹⁴⁾。また動物実験においては、この多型は空間記憶や不安様行動に影響し、細胞内BDNF輸送と神経活動依存的BDNF放出に影響を及ぼすこと^{10,15)}、BDNF mRNAの樹状突起輸送を損なうこと¹⁶⁾、さらには長期抑圧 (long-term depression : LTD) を低下させること¹⁷⁾ が示されている。つまり、この多型はBDNFの活動依存的な神経可塑性に影響している可能性が示唆されている。

抗うつ薬による BDNF/TrkB シグナルを介した可塑性の上昇

BDNF/TrkBシグナル伝達がうつ病患者の血中と脳内で減少していることを考えると、抗うつ薬がBDNFレベルを増加させるという発見は大変興味深いものであった。実際に動物実験によって、三環系モノアミン酸化酵素阻害薬および選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (Serotonin selective reuptake inhibitor : SSRI) の抗うつ薬が、脳内のBDNF発現を増加させることがわかった⁶⁾。また、マウス海馬の歯状回細胞からのBDNFや歯状回顆粒ニューロンの前駆細胞からのTrkB発現の欠失は、うつ様行動および神経新生に対する抗うつ薬の効果を減少させることが示された⁶⁾。近年、即効性の抗うつ薬として注目されている麻酔薬ケタミン (NMDA型グルタミン酸受容体の拮抗薬) においても、マウス前脳領域におけるBDNFまたはTrkB遺伝子の欠失により、うつ様行動の減少や海馬シナプス増強などの抗うつ作用が抑えられる¹⁸⁾。また興味深いことに、抗うつ薬に対する行動および神経可塑性に関連する反応は、Val66Met多型のマウスモデルで失われていた^{15,19)}。さらに、これらのマウスでは、ケタミンとその代謝物である(2R, 6R)-ヒドロキシノルケタミン (hydroxynorketamine ; HNK) によって誘導されるスパイン形成の増加が抑えられていた^{18,20)}。HNKはケタミンの抗うつ作用を主に担っており、BDNF/TrkBシグナル伝達を通じた神経可塑性の変化をもたらすと考えられている²¹⁾。

本シリーズの企画・構成に際し、金沢工業大学 バイオ・化学部 応用バイオ学科 小島 正己先生にご協力頂きました。

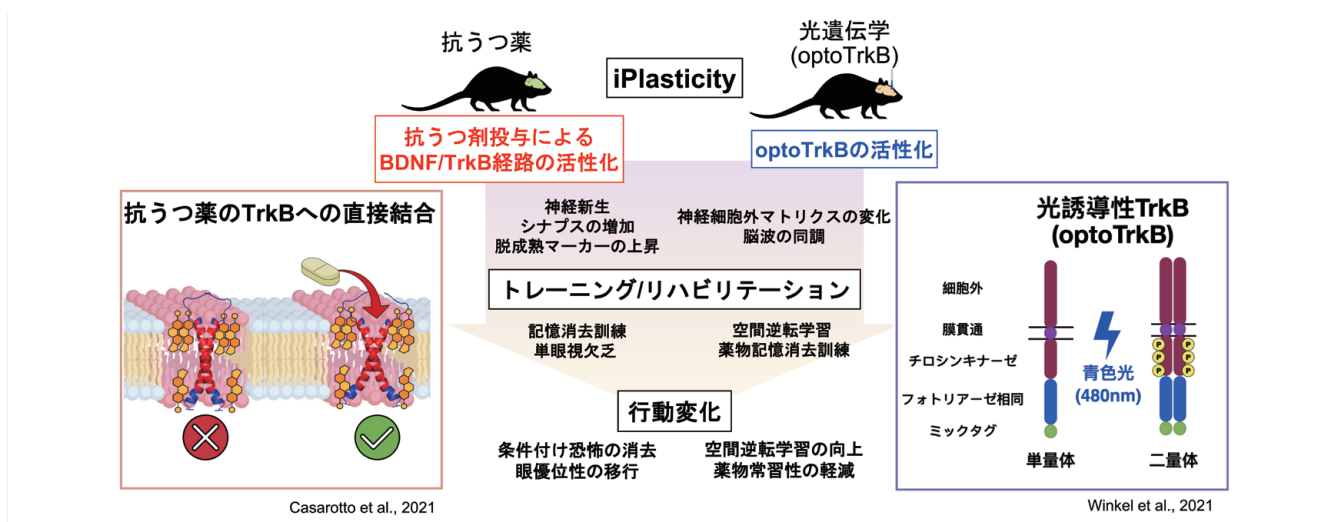


図. 若年期可塑性の誘導 (iPlasticity) による神経精神疾患様の症状の改善

しかし、臨床研究においては、Met対立遺伝子はどちらかといえば従来の抗うつ薬への反応を改善していることも示唆されている²²⁻²⁵⁾。一方反応の減少も報告された²⁶⁾。うつ病患者の抗うつ反応におけるBDNFシグナル伝達の役割を解明するには、さらに多くの遺伝的解析が必要と考えられる⁴⁾。

若年期可塑性の誘導(iPlasticity)による神経精神疾患様の症状の改善

筆者が所属するヘルシンキ大学、ニューロトロン研究センター (Eero Castren教授) では、抗うつ薬の慢性投与によって誘導される、幼弱期や臨界期に見られるような神経可塑性 (induced juvenile critical period-like plasticity : iPlasticity) に焦点を当てて研究を行っている。Castrenは、この可塑性の上昇は、ある種の「トレーニング」を組み合わせることにより、うつだけでなく他の神経精神疾患の治療にも応用できる可能性を提唱している²⁷⁾。つまり代表的なSSRIであるフルオキセチンをラットあるいはマウスに慢性投与した後、単眼遮蔽を組み合わせることで弱視を、恐怖記憶消去トレーニングにより心的外傷後ストレス障害 (PTSD) を、さらには社会性の訓練により攻撃性が改善されることを明らかにした²⁸⁻³¹⁾。これはフルオキセチンがBDNF/TrkBの活性化を介した

神経可塑性の上昇に加えて、内外刺激により神経が活性化されて、脳神経ネットワークの再編成を引き起こすためであると考えられている。しかし、抗うつ薬がどのようにTrkBを活性化するのか、またどの神経ネットワークがどのような変化を受けるのかが不明だった。最近、フルオキセチン、イミプラミン、ケタミンなど、さまざまなクラスに属する抗うつ薬が直接TrkBに結合することが示された³²⁾。二量体を形成したTrkBは膜貫通ドメインで互いに交差し、抗うつ薬が結合するためのポケットを作成する。抗うつ薬は、このポケット内のコレステロール結合ドメインに直接結合し、シナプス膜のTrkBを安定化し、BDNFを介したTrkBシグナル伝達を促進する³²⁾。これらの発見は、抗うつ薬の主要な作用部位がモノアミン輸送体ではなく、TrkBへの直接結合であるという全く新しい仮説を提唱し大きな話題になっている。さらに我々は、光刺激によって二量体化するoptoTrkBの系を用いることにより、これまでBDNFは拡散性であるが故に難しかった標的細胞の可塑性の研究を行っている。パルブアルブミン陽性介在神経細胞でTrkBの活性化と単眼遮蔽を組み合わせることで、眼優位性が引き起こされ、シナプス可塑性の上昇、脱抑制によるLTPの上昇や脳波の同調をもたらすことを証明した³³⁾。現在はoptoTrkBの系

を用いて、PTSDの治療や空間記憶の向上、薬物依存性の軽減を目指して研究を行っている。

おわりに

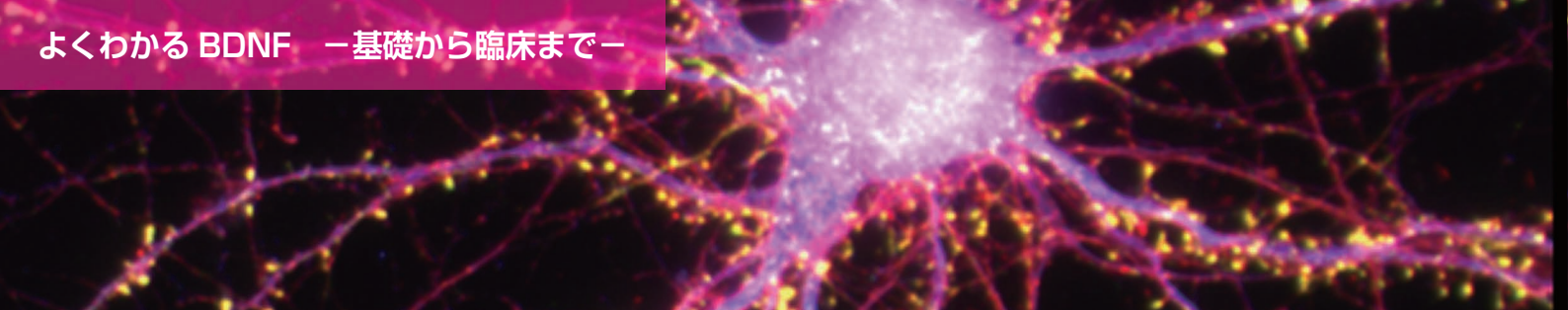
Val66Met多型の発見以降、多くの遺伝研究によりその遺伝的影響や抗うつ薬の効果の違いを生み出す可能性が示されてきた。その一方、いくつかの研究ではその効果を再現することができていない。これは年齢や性別、環境要因、民族性、分析に使用される遺伝子モデル、遺伝子間相互作用などの多くの要因が複雑に影響しあっているためであると考えられる³⁴⁾。動物モデルを使った研究では、Val66Met多型モデルマウスや抗うつ薬作用の新しいモデル、optoTrkBを用いることによって、BDNF経路が関与する精神疾患の発症メカニズムの解明や新たな治療法を見出す可能性が期待される。

【謝辞】

藤田医科大学 小清水先生には有益な助言をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

【参考文献】

- 1) Angelucci, F. et al. : *Mol. Psychiatry*, **10** (4), 345 (2005).
- 2) Fernandes, B. S. et al. : *Mol. Psychiatry*, **20**, 1108 (2015).
- 3) Nieto, R. R. et al. : *Front. Psychiatry*, **12**,



662407 (2021).

4) Castrén, E. and Monteggia, L. M. : *Biol. Psychiatry*, **90**, 128 (2021).

5) Hing, B. et al. : *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **177**, 143 (2018).

6) Autry, A. E. and Monteggia, L. M. : *Pharmacol. Rev.*, **64**, 238 (2012).

7) Yoshida, T. et al. : *PLoS One*, **7**, e42676 (2012).

8) Södersten, K. et al. : *J. Affect. Disord.*, **160**, 1 (2014).

9) Saghzadeh, A. and Rezaei, N. : *J. Autism Dev. Disord.*, **47**, 1018 (2017).

10) Egan, M. F. et al. : *Cell*, **112**, 257 (2003).

11) Shimizu, E. et al. : *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **126B**, 122 (2004).

12) Bath, K. G. and Lee, F. S. : *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.*, **6**, 79 (2006).

13) Shen, T. et al. : *Aging Dis.*, **9**, 523 (2018).

14) Hosang, G. M. et al. : *BMC Med.*, **12** : 7, 1 (2014).

15) Chen, Z.-Y. et al. : *Science*, **314**, 140 (2006).

16) Baj, G. et al. : *Front. Neurosci.*, **7**, 188 (2013).

17) Mizui, T. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **112**, E3067 (2015).

18) Björkholm, C. and Monteggia, L. M. : *Neuropharmacology*, **102**, 72 (2016).

19) Bath, K. G. et al. : *Neuropsychopharmacology*, **37**, 1297 (2012).

20) Fukumoto, K. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **116**, 297 (2019).

21) Zanos, P. et al. : *Nature*, **533**, 481 (2016).

22) Choi, M. J. et al. : *Brain Res.*, **1118**, 176 (2006).

23) Niitsu, T. et al. : *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **45**, 183 (2013).

24) Yan, T. et al. : *Asia-Pac. Psychiatry*, **6**, 241 (2014).

25) Domschke, K. et al. : *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **13**, 93 (2010).

26) Laje, G. et al. : *Biol. Psychiatry*, **72**, e27 (2012).

27) Castrén, E. : *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 241 (2005).

28) Umemori, J. et al. : *Psychiatry Clin. Neurosci.*, **72**, 633 (2018).

29) Mikics, É. et al. : *Neuropsychopharmacology*, **43**, 235 (2017).

30) Karpova, N. N. et al. : *Science*, **334**, 1731 (2011).

31) Vetencourt, J. F. M. et al. : *Science*, **320**, 385 (2008).

32) Casarotto, P. C. et al. : *Cell*(2021). doi:10.1016/j.cell.2021.01.034.

33) Winkel, F. et al. : *Mol. Psychiatry*, 1-10 (2021). doi : 10.1038/s41380-021-01211-0.

34) Tsai, S.-J. et al. : *Front. Mol. Neurosci.*, **11**, 156 (2018).

神経疾患研究に

Wako

Mature BDNF ELISAキットワコー，高感度品

本品は、検体中の mBDNF 濃度を特異的に測定可能な ELISA キットです。発光検出系を用いることで既存品（コード No. 296-83201 Mature BDNF ELISA キットワコー）の約 20 倍の感度を実現し、従来検出が難しかったマウス血中の微量な BDNF を測定可能です。

特長

- マウス血漿、血清中の微量な BDNF を測定可能
- mature BDNF を特異的に検出

性能

品名	コード No.	測定対象	検体	検量線範囲	ヒト proBDNF との反応性	必要検体量	測定時間	検出法
Mature BDNF ELISA キットワコー，高感度品	298-83901	mature BDNF	マウス血清・血漿・脳破砕液 ラット血清・血漿 ヒト血清・血漿・唾液	0.205 ~ 50pg/mL	< 0.5%	13μL (4 倍希釈時)	約 4 時間	発光系

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
298-83901	Mature BDNF ELISA Kit Wako, High Sensitive	免疫化学用	96回用	83,000

製品詳細及びアプリケーションデータは当社HPをご覧ください。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/product/detail/W01W0129-8390.html>

神経・精神疾患研究ELISAキット トライアルキャンペーン

初めてご購入いただく方に限り、対象の神経・精神疾患研究 ELISAキットを希望納入価格の30%OFFでご提供します。

掲載品目

- ・ Mature BDNF ELISAキットワコー，高感度品
- ・ βアミロイドELISA キットワコーシリーズ
- ・ 高分子アミロイドβオリゴマー ELISAキットワコー Ver.2
- ・ Tau ELISAキットワコー
- ・ リン酸化Tau T181 ELISAキットワコー

申込方法

パンフレット裏面の申込用紙に必要事項をご記入後、当社販売代理店までお渡し下さい。

※1 研究室につきご注文は1回までとなります。ご注文いただくキットの数と種類に制限はありません。

Mature BDNF ELISAキットワコー，高感度品 インハウスセミナー開催中

「製品のこともっと良く知りたい」、「メーカーに詳細を聞きたい」というお客様には、個別に製品紹介のインハウスセミナー（約30分、オンラインもしくは現地訪問）を実施します。参加人数は1名様でも問題ございません。まだ購入するか決まっていない方も是非お申し込み下さい。

☑️…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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

少量サイズで保管に便利

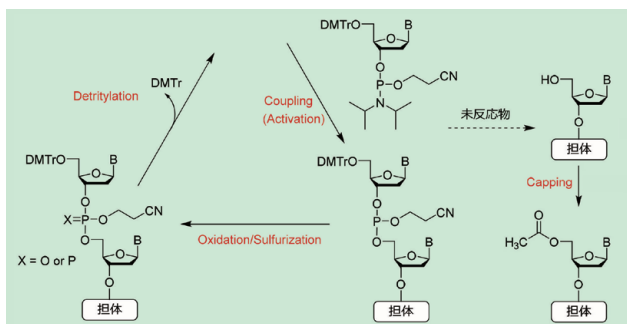
核酸合成用試薬 500mL 包装

Wako

オリゴ核酸を化学合成するための最も一般的な方法は、ホスホロアミダイト法による固相合成です。この手法は自動合成機を用いることから、調製された専用試薬（反応補助試薬）が必要です。本品は、ホスホロアミダイト法に用いる反応補助試薬の500mL包装です。これまで3L包装をフルラインアップしてきましたが、新たに使い切りサイズの小包装を追加しました。

反応補助試薬は、消防法第四石油類に該当するアセトニトリルやトルエンといった有機溶媒が用いられていることから、倉庫での保管数量に制限があります。そこで、1本あたりの容量をサイズダウンした500mL包装を追加しました。ラボスケールでのご使用など、危険物の指定数量にお困りのお客様は500mL包装をご利用下さい。

ホスホロアミダイト法



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 045-34445	Deblocking Solution [Dichloroacetic Acid-Toluene (3:97)]	核酸合成用	500mL	照会
NEW 150-03515	Oxidizing Solution [Iodine Solution (abt. 0.05mol/L)] [Pyridine:Water (9:1)]	核酸合成用	500mL	10,000
NEW 198-18765	Sulfurizing Solution [0.05mol/L [(N,N-Dimethylamino)ethylidene] amino]-3H-1,2,4-dithiazolone-3-thione Solution] [Pyridine:Acetonitrile (6:4)]	核酸合成用	500mL	照会

核酸合成用試薬のラベルデザインが新しくなりました！



Ref⁺…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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

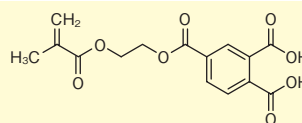
歯科有機材料の研究用途に

歯科接着性モノマー

Wako

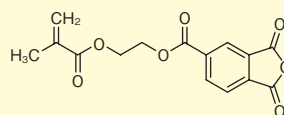
歯科用接着材を構成する成分は、モノ及びジメタクリラート系モノマー、添加剤（開始剤など）、増粘剤、溶媒が挙げられます。接着系材料は、可視光あるいは化学的に開始するラジカル重合を用いて未重合のモノマーを重合硬化することでレジンと歯質を接着します。接着材に用いられるモノマーはさまざまな機能が必要であり、機能性に応じて複数のモノマーが配合されます。モノマーの一つである接着性モノマーは、酸性基と重合性基の両方を有する酸性のモノマーで、りん酸系モノマーとカルボン酸系モノマーがあります^{1,2)}。

この度、カルボン酸系モノマーの4-METと4-METAをラインアップしました。歯科接着材の研究用途でご使用いただけます。



4-MET

C₁₅H₁₄O₈=322.27
CAS RN® 68183-31-3
1



4-META

C₁₅H₁₂O₇=304.25
CAS RN® 70293-55-9
2

【参考文献】

- 1) 山田文一郎：「歯科有機材料の化学 改定版 基礎知識と応用」(YAMAKIN (株)) (2018)。
- 2) Yoshida, Y.: *Ann. Jpn. Prosthodont. Soc.*, 4, 353 (2012)。

No.	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 1	139-19051	4-MET (4-[2-(Methacryloyloxy)ethoxycarbonyl]phthalic Acid)	有機合成用	5g	照会
NEW 2	136-19061	4-META (4-[2-(Methacryloyloxy)ethoxycarbonyl]phthalic Anhydride)	有機合成用	5g	照会

固体酸触媒

Wako

PAFR-II (*m*-Phenolsulfonic Acid Formaldehyde Resin)

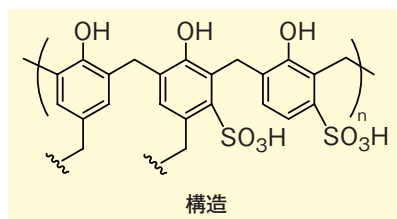
エステル化合物は化学産業における重要な製品、または中間体です。エステル化合物は最も基本的かつ、重要な反応のひとつであるエステル化反応によって合成することができます。しかし、エステル化反応は平衡反応であるため、高い収率で生成物を得るには水の除去または過剰量の試薬が必要となります。

本品は、*m*-フェノールスルホン酸ナトリウムとパラホルムアルデヒドから合成する固体酸触媒です。本品を使用することで、バッチ反応において水の除去を行うことなく効率良くエステル化でき、回収再利用も可能です。また、固体触媒フロー反応に用いると、種々のエステルを高い収率で合成することができます。

特長

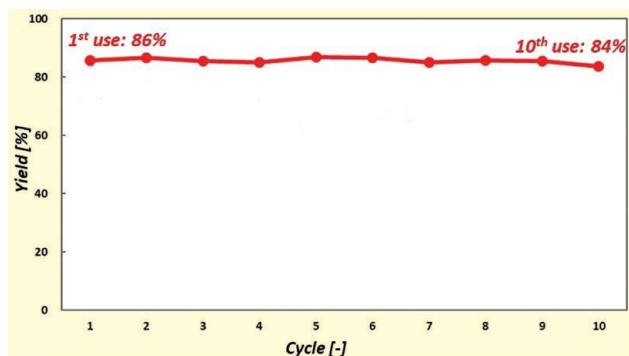
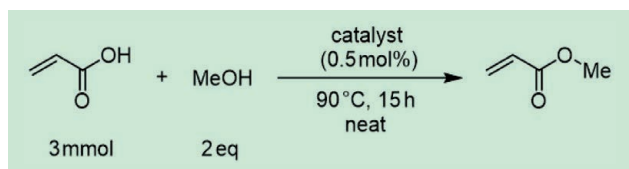
- スルホン酸が担持された黒色の固定化触媒
- バッチ反応で水の除去を行うことなくエステル化可能
- 回収再利用可能
- フロー反応において高い収率でエステルが合成可能

製品概要

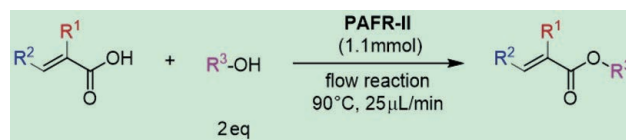


データ

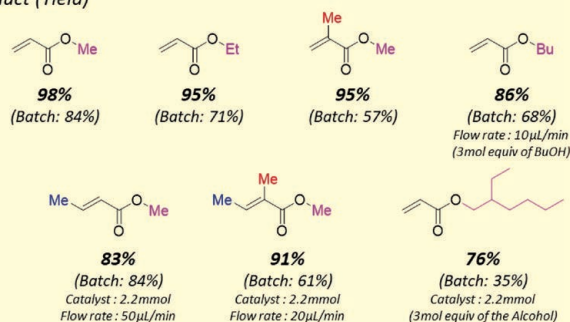
バッチ反応でのPAFR-IIの回収再利用



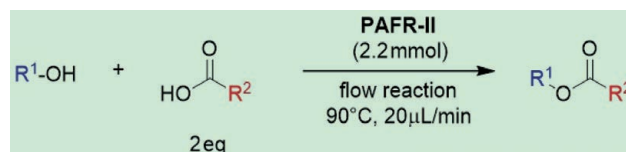
■ アクリル酸系カルボン酸と種々のアルコールのエステル化反応 (フロー及びバッチ)



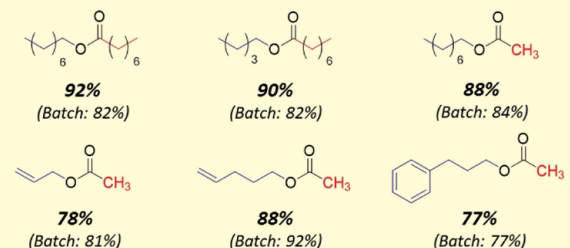
Product (Yield)



■ 種々のカルボン酸とアルコールによるエステル化反応 (フロー及びバッチ)



Product (Yield)



【参考文献】

- 1) Hu, H., Ota, H., Baek, H., Shinohara, K., Mase, T., Uozumi, Y. and Yamada, Y. M. A : *Org. Lett.*, **22** (1), 160 (2020).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
162-28971	PAFR-II	有機合成用	1g	23,000
168-28973			5g	80,000

関連製品

フロー反应用触媒

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
186-03451	Rh-Pt/ (DMPSi-Al ₂ O ₃)	有機合成用	1g	15,000
182-03453			5g	50,000
169-28861	Pd/C, Beads (Pd 5%)	有機合成用	5g	22,000
167-28862			25g	83,000
162-28851	Pt/C, Beads (Pt 5%)	有機合成用	5g	21,000
160-28852			25g	81,000

品目追加

生薬試験用試薬

Wako

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揃えています。

生薬シゴカの確認試験に使用される「エレウテロシドB」、生薬ソウハクヒに含まれる有効成分「ムルベロシドA標準品」などを新たにラインアップに追加しました。

■ エレウテロシドB

本品は、日本薬局方 一般試験法 試薬・試液のエレウテロシドB、液体クロマトグラフィー用に適合しています。生薬「シゴカ」の確認試験にご使用いただけます。

■ ムルベロシドA標準品

生薬ソウハクヒに含まれる有効成分です。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
036-25841	Cholic Acid	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	10mg	9,000
049-34661	Deoxycholic Acid	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	10mg	9,000
048-34631	Diphenyl Sulfone Standard	生薬試験用	100mg	24,000
054-09481	Eleutheroside B	局方生薬試験用(液体クロマトグラフィー用)	10mg	照会
057-09471	Eugenol	局方生薬試験用(薄層クロマトグラフィー用)	100mg	12,000
134-19121	Mangiferin	局方生薬試験用(定量用)	20mg	85,000
136-19181	Mulberoside A Standard	生薬試験用	10mg	照会
194-19041	Saikosaponin a,d Mixture Standard Reagent	局方生薬試験用(定量用)	100μg	45,000
194-18941	Saikosaponin b ₂ Standard Reagent	局方生薬試験用(定量用)	20μg	18,000

近況発売

NEW

追加品目のお知らせ

ポジティブリスト関連農薬標準品

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。

農薬標準品

■ ジクロベンチアゾクス標準品

■ メタミホップ標準品

■ トルプロカルブ標準品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
044-34731	Dichlobentiazox Standard	残留農薬試験用	100mg	照会
135-19151	Metamifop Standard	残留農薬試験用	20mg	17,000
207-21371	Tolprocarb Standard	残留農薬試験用	50mg	照会

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→残留農薬・動物用医薬品分析→標準品→残留農薬・動物用医薬品分析用標準品 “製品一覧”
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01942.html>

欲しい混合標準液がすぐに見つかる！

農薬・動物用医薬品混合標準液検索システム

Wako

農薬・動物用医薬品混合標準液検索システムは、当社の約250種類の農薬・動物用医薬品混合標準液を「成分名」及び「CAS RN®」から検索することができるシステムです。検索結果には製品の他に、当社推奨カラムや関連する公定法へのリンクも掲載しています。一斉分析の際の混合標準液の選定に是非ご活用下さい。

検索システムの使い方



- ①「成分名で探す」または「CAS RN®で探す」を入力後、
- ②「検索キーワード」を設定し、
- ③「検索」ボタンをクリックします。

※「成分一覧から探す」では、表示される成分一覧からの、一括登録が可能です。

検索システムの見方



検索結果では検索キーワードで指定した成分数が多いものから順に製品が表示されます。

「>製品名」をクリックすることで製品詳細ページへ遷移します。

- ① 製品に含まれる成分一覧が表示されます。検索にヒットしたキーワードはハイライト（ピンク色）表示されます。

成分名をクリックすることで単品標準品のページに遷移します。

- ② 当社推奨の分析カラムが表示されます。リンクをクリックすることで製品詳細ページへ遷移します。

- ③ 製品に関連する公定試験方法が表示されます。リンクをクリックすることで試験法ページへ遷移します。

詳細は当社 HP をご覧下さい。

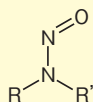
試薬事業トップ→製品情報→分析→残留農薬・動物用医薬品分析→農薬・動物用医薬品混合標準液検索システム
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/product/search/pesticides.html>

医薬品の不純物分析に！

ニトロソアミン類標準品

Wako

ニトロソアミン類は、一部の化合物が発がん性を持つことから医薬品中の不純物として管理されています。この度、EMAの規制値に新たに追加されたN-ニトロソモルホリン (NMOR) 標準品を発売しました。



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
149-09961	N-Nitrosodi-n-butylamine Standard [NDBA] F° ㊦	クロマトグラフ用	100mg	15,000
141-09921	N-Nitrosodiethylamine Standard [NDEA] F° ㊦	クロマトグラフ用	100mg	7,000
145-09941	N-Nitrosodiisopropylamine Standard [DIPNA, NDIPA] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	20,000
147-03781	N-Nitrosodimethylamine Standard [NDMA] ㊦ ㊧	ガスクロマトグラフ用	1g	4,200
140-09991	N-Nitrosodi-n-propylamine Standard [NDPA] F° ㊦	クロマトグラフ用	100mg	7,500
142-09951	N-Nitrosoethylisopropylamine Standard [EIPNA, NEIPA] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	20,000
146-09971	N-Nitrosomethylaminobutyric Acid Standard [NMBA] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	20,000
140-10001	N-Nitrosomethylethylamine Standard [NEMA, NMEA] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	25,000
148-09931	N-Nitrosomethylphenylamine Standard [NMPA] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	15,000
143-09981	N-Nitroso-N'-methylpiperazine Standard [MeNP] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	20,000
NEW 141-10031	N-Nitrosomorpholine Standard [NMOR] F° ㊦	クロマトグラフ用	100mg	15,000
147-10011	N-Nitrosodiethylamine-d ₁₀ Standard [NDEA-d ₁₀] F° ㊦	クロマトグラフ用	50mg	52,000
144-10021	N-Nitrosodimethylamine-d ₆ Standard [NDMA-d ₆] F° ㊦	クロマトグラフ用	100mg	73,000

詳細は当社 HP をご覧ください。

試薬事業トップ→医薬品 製造・品質管理→医薬品試験用試薬→ニトロソアミン類

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/02128.html>

医薬品中の残留溶媒分析に！

ICH Q3C 試験用溶媒

Wako

医薬品中の残留溶媒は、医薬品の残留溶媒ガイドライン (ICH Q3C) において、人の健康に及ぼし得るリスクに基づいてクラス1～3に分類され、厳密に管理されています。医薬品残留溶媒の試験法は、日本薬局方や米国薬局方で主にヘッドスペースガスクロマトグラフ法を用いた高感度な分析手法が規定されています。しかしながら、市販溶媒のほとんどは残留溶媒が除去されておらず、クロマトグラフ上で溶媒由来の不純物のピークと測定サンプルのピークが重なってしまうことがあります。当社の「残留溶媒分析用」溶媒は、含まれる残留溶媒を低減・保証しています。

この度、ICH Q3Cクラス1～3記載の残留溶媒を保証した*「DMI ICH(Q3C試験用)」を発売しました。

特長

- 溶媒に含まれる低沸点化合物を低減！
- ICH Q3Cクラス1～3記載の残留溶媒を保証！

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 049-34725	1,3-Dimethyl-2-imidazolidinone for ICH Q3C ㊦	残留溶媒試験用	500mL	照会

※一部保証していない溶媒種もございます。詳細は製品規格書をご覧ください。

詳細は当社 HP をご覧ください。

試薬事業トップ→医薬品 製造・品質管理→医薬品試験用試薬→残留溶媒→残留溶媒試験用溶媒

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00633.html>

日本薬局方に準拠！

Wako

崩壊試験・溶出試験用試薬

平成30年3月28日 (消食表第156号) に健康食品に関する崩壊試験がガイドライン化され、GMP認定工場では、崩壊試験が義務化されました*。当社では、日本薬局方に準じた製法で調製した崩壊試験・溶出試験用試薬を取揃えています。

※公益財団法人日本健康栄養食品協会HPより

特長

- 低溶出の改ざん防止キャップ付き高純度薬品用クリーンボトルを採用
- pHは規定値の±0.05以内 (25℃)
- 管理されたクリーンな環境下で生産

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
016-25947	酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.05mol/L, pH 4.0	医薬品崩壊・溶出試験用	10L	11,500
061-06371	崩壊試験第1液, pH 1.2/溶出	医薬品崩壊・溶出試験用	5L	5,000
069-06377	試験第1液, pH 1.2		10L	8,000
068-06381	崩壊試験第2液, pH 6.8	医薬品崩壊・溶出試験用	5L	5,000
066-06387			10L	8,000
065-06391	溶出試験第2液	医薬品崩壊・溶出試験用	5L	5,000
063-06397			10L	8,000
061-06398			20L	10,800

その他の pH 緩衝液や 10 倍濃縮品も取揃えています。

詳細は当社 HP をご覧ください。

試薬事業トップ→分析→栄養・機能性成分→崩壊試験・溶出試験用試薬

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00636.html>



㊦…2～10℃保存 F°…-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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

エクソソーム除去 FBS **biosera** Exosome-Depleted FBS

本品は、エクソソーム残存量が限りなく少ないFBSです。通常、FBSには多くのウシ由来エクソソームが含まれていますが、本品はBioSera社独自の技術により、ほとんどのエクソソームの除去に成功しました。本品を用いることで実験へのウシ由来エクソソームの影響を限りなく抑制できます。

特長

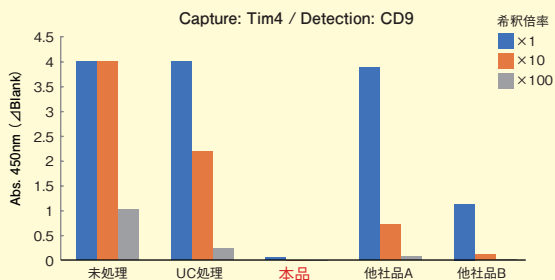
- 細胞培養可能（濃度：10% FBS）
- FBS中の残存エクソソームが限りなく少ない

データ

■ FBS中の残存エクソソーム検出

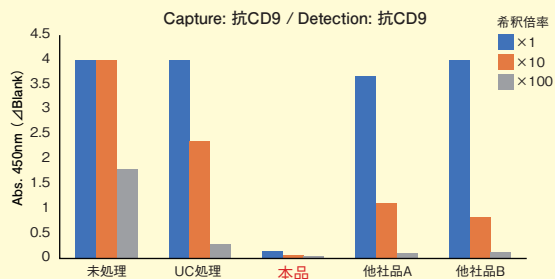
(A) PS Capture™ ELISA

エクソソーム膜表面のりん脂質成分であるホスファチジルセリン (PS) 結合分子 Tim4 を固相化した当社独自の ELISA



(B) CD9-Capture ELISA

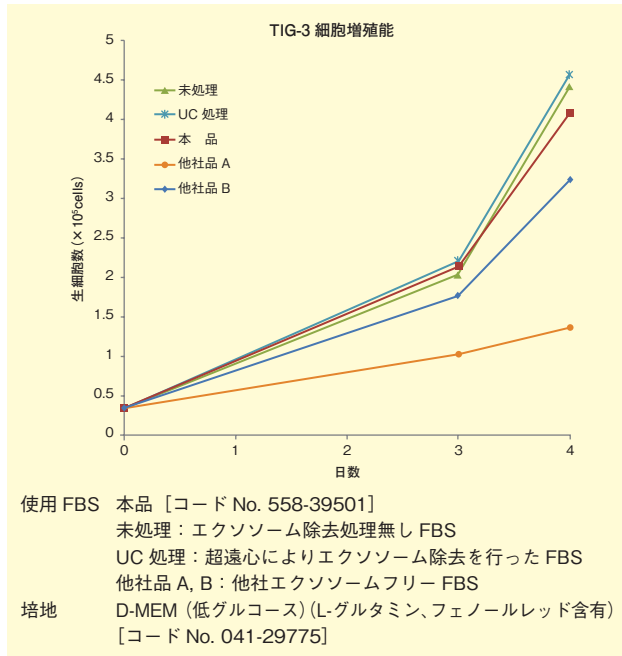
エクソソームマーカー抗体 抗CD9 抗体を固相化した ELISA



検出抗体 抗CD9, モノクローナル抗体 (1K), ビオチン結合
使用 FBS 本品 [コード No. 558-39501]
未処理: エクソソーム除去処理無し FBS
UC 処理: 超遠心によりエクソソーム除去を行った FBS
他社品 A, B: 他社エクソソームフリー FBS

ウシと交差性をもつビオチン標識エクソソームマーカー抗体を一次抗体に使用し、ELISAにより各FBS中の残存エクソソームを検出した。本品ではエクソソームマーカー (CD9) シグナルがほぼ検出されず、FBS中の残存エクソソームが限りなく少ないことが確認できた。

■ FBS中での細胞増殖能の確認



ヒト胎児肺由来正常二倍体線維芽細胞 (TIG-3) を、10% FBS を含む D-MEM 中で培養し、細胞増殖能を調べた。10% FBS/D-MEM 培養条件下において、本品は他社品と同程度以上の細胞増殖能を持つことが確認できた。

コードNo.	品名	メーカー	容量	希望納入価格 (円)
558-39501	Exosome-Depleted FBS	BioSera	50mL	30,000

関連製品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
041-29775	D-MEM (Low Glucose) with L-Glutamine and Phenol Red	細胞培養用	500mL	1,300
296-83701	CD9-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP)	遺伝子研究用	96回用	90,000
290-83601	CD63-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP)	遺伝子研究用	96回用	90,000
292-83801	CD81-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP)	遺伝子研究用	96回用	90,000
297-79201	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD)	遺伝子研究用	96回用	58,000

当社では、エクソソーム関連製品を多数取扱っています。詳細は当社 HP をご覧下さい。
試薬事業トップ→ライフサイエンス→Exosome (エクソソーム) 研究試薬

エクソソーム 和光



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、2022年1月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

液体試料からの small RNA 精製キット(スピнкаラム) ISOSPIN Liquid Sample miRNA

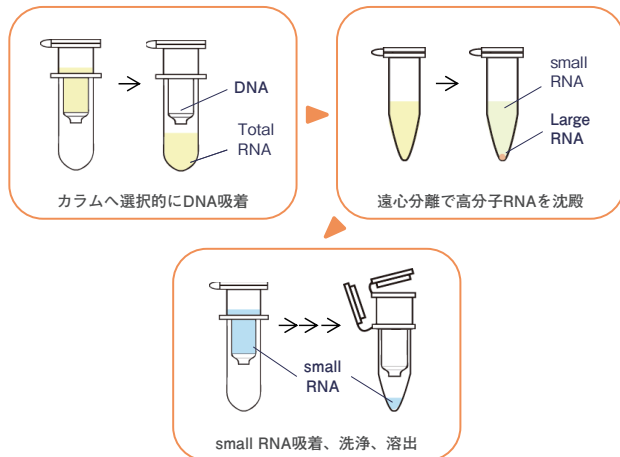
本品は、液体試料からmicro RNA (miRNA) などの small RNA をスピнкаラムを用いて効率よく精製するためのキットです。フェノールやクロロホルムを使用せず、カラム精製や遠心操作によりDNAや高分子RNAを除いて small RNA を濃縮することができます。

特長

- 血漿、血清、全血、唾液、尿などの液性生体試料から small RNA を効率よく精製
- フェノールやクロロホルムなどの毒劇物を使用しない
- DNase を使用せず、ゲノムDNA を除去可能

プロトコル

small RNA 精製の流れ



データ

■ 本品を用いた small RNA 抽出例

① ② ③

Lane①: プロトコル中、選択的にカラムへ吸着させた DNA (Large RNA を含む) を洗浄し、溶出したもの

Lane②: 本品で得られた small RNA

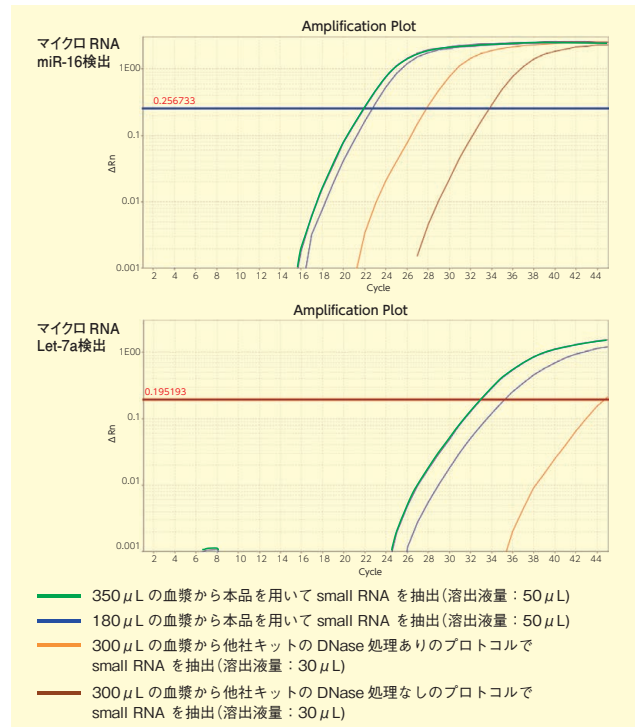
Lane③: DNA をカラムへ吸着させた際のろ液を遠心分離せず、カラム精製を続けて行って回収した Total RNA (Large RNA を含む small RNA)

各 10 μ L をアガロースゲル電気泳動に供した。

電気泳動図
1% Agarose S in TAE (EtBr染色)

全血 180 μ L から本品を用いて small RNA を抽出した (溶出液量: 50 μ L)。

■ 他社キット (スピнкаラム法) と本品を用いた small RNA 抽出



他社キットプロトコルに従って、300 μ L の血漿から添付の DNase 処理を実施する場合としない場合とで、small RNA を抽出した。本品を用いて、180 μ L と最大量 350 μ L の血漿から small RNA を抽出した。

各溶出液 3.57 μ L の small RNA を鋳型に Template-Switching 逆転写反応で cDNA を合成し、Intercalation 法によるリアルタイム PCR でマイクロ RNA の miR-16 と Let-7a を検出した。

(装置: QuantStudio 12K Flex)

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
318-09191	ISOSPIN Liquid Sample miRNA	50回用	45,000

核酸抽出・精製試薬カタログ第2版

Wako

当社取扱いの核酸抽出・精製試薬と核酸採取・保存試薬をまとめています。検体と核酸の種類から最適な核酸抽出・精製試薬をお探しいただけます。カタログをご希望の場合は、当社または当社代理店営業員までお問合せ下さい。

当社HPのカタログ請求ページより、冊子をご請求いただけます。またPDF版を閲覧及びダウンロードいただけます。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/catalog/index.html>

ラムダ株が持つ変異を検出！

SARS-CoV-2 del247-253 Mutation Detection Kit

Wako

本品は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のdel247-253変異を検出できるキットです。

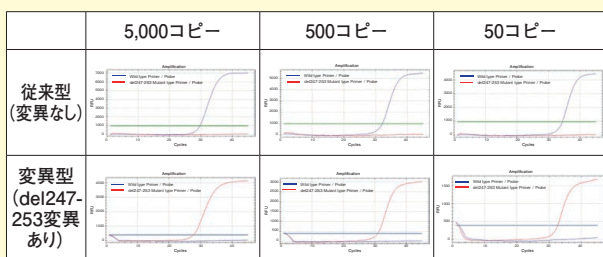
del247-253変異は、Sタンパク質の247番目から253番目までのアミノ酸が欠損した変異で、ラムダ株 (C.37系統) が持つ変異です。

ラムダ株は、ペルーで初めて発見された変異株であり、WHOによって注目すべき変異株 (VOI ; Variant of Interest) に分類されています。

特長

- 判定が容易
変異型と従来型のプライマー / プロブセット使用時のCt値の比較で判定
- 1-step RT-qPCR法で迅速に変異を検出
約70分で完了
- 独自開発のプライマー・プロブで、高感度に変異を検出
- 他の変異株検出キットを併用すると、すべての変異株を1プレートで、同じ反応条件で測定可能
N501Y、E484K、L452R、E484Q、del247-253すべてPCR反応条件が同じであるため、1プレートで測定可能

データ



測定サンプル：従来 (非変異) 型及び del247-253 変異型 Control RNA
サンプルコピー数：5,000、500、50 コピー / Well サイクル数：45

従来 (非変異) 型 Control RNA では、Wild type Primer/Probe の増幅曲線 (青) が del247-253 Primer/Probe の増幅曲線 (赤) より早期に立ち上がったため、del247-253 変異なしと判断できた。del247-253 変異型 Control RNA では、del247-253 Mutant type Primer/Probe の増幅曲線 (赤) が Wild type Primer/Probe の増幅曲線 (青) よりも早期に立ち上がったため、del247-253 変異ありと判断できた。

いずれのサンプルコピー数でも片方の増幅曲線のみ立ち上がり、特異性が高いことが確認された。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
285-37103	SARS-CoV-2 del247-253	遺伝子	20反応用	20,000
289-37101	Mutation Detection Kit	研究用	200反応用	80,000

関連商品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
283-35703	SARS-CoV-2 N501Y	遺伝子	20反応用	20,000
287-35701	Mutation Detection Kit	研究用	200反応用	80,000
287-35603	SARS-CoV-2 E484K	遺伝子	20反応用	20,000
281-35601	Mutation Detection Kit	研究用	200反応用	80,000
283-36303	SARS-CoV-2 L452R	遺伝子	20反応用	20,000
287-36301	Mutation Detection Kit	研究用	200反応用	80,000
289-36403	SARS-CoV-2 E484Q	遺伝子	20反応用	20,000
283-36401	Mutation Detection Kit	研究用	200反応用	80,000

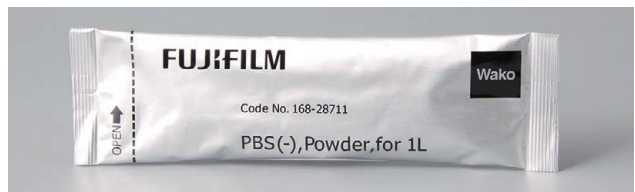
調製の手間を削減！

PBS (-), 粉末, 1L 用

Wako

本品は、PBS (-) 粉末のスティック包装です。1Lの精製水に対して本品を1本入れることで、1×PBS (-) を簡単に調製することが可能です。

秤量の必要がないため、調製の手間を大幅に削減できます。日々の実験にご活用下さい。



特長

- 調製の手間を大幅に削減
本品1本を水に溶かすだけ。
各試薬の秤量不要。
- 扱いが容易
従来のタブレット型製品よりも溶けやすい。
保管時に割れる心配なし。
- 1×PBS (-) 溶液品よりも安価
溶液品購入と比較してコストカットが可能。

組成

NaCl : 154mmol/L
KH₂PO₄ : 1.06mmol/L
Na₂PO₄ : 2.97mmol/L

使用方法

本品を精製水1Lに溶解してご使用下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
164-28713	PBS (-), Powder, for 1L	生化学用	1L用×20	9,200
162-28714			1L用×100	39,500

短時間で染色可能なヒトES/iPS細胞未分化マーカー rBC2LCN(AiLecS1), アニマルフリー

Wako

rBC2LCNは、*Burkholderia cenocepacia*由来のレクチンであるBC2L-CのN末端ドメインを大腸菌で発現させた組換え体レクチンです。BC2LCNは未分化ヒトES/iPS細胞の細胞表面に存在するムチン様O型糖鎖であるH-type3 (Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc) に非常に高い親和性を持ちます。そのため、未分化ヒトES/iPS細胞のマーカーとして使用することができます。

蛍光色素で標識済みのrBC2LCNは、そのまま適切な濃度でヒトES/iPS細胞の培養液に添加することで、未分化細胞を生きのまま解析することができます。

未標識品と緑色蛍光標識体 (FITC)、赤色蛍光標識体 (Cy5領域) をラインアップしています。

特長

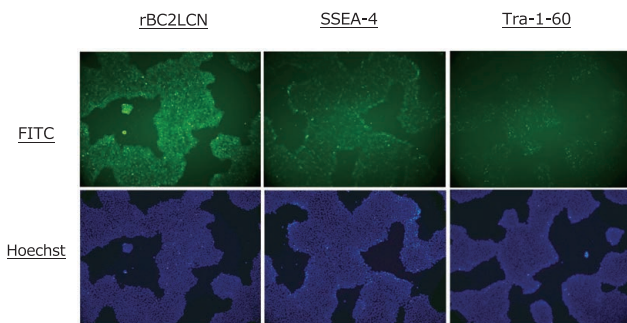
- 原料に動物由来成分を使用していないアニマルフリー品
- 培養液に添加するのみで未分化細胞を染色可能(約40分)
- 細胞染色、フローサイトメトリーに使用可能
- 細胞固定を行わず、細胞を生きのまま明瞭に染色可能
- 細胞毒性が低く、染色した状態で培養可能

製品概要

- 無菌試験済み
 - 励起波長・蛍光波長
 - PBS (-) 溶液
 - 実用希釈倍率
- | | 励起波長 | 蛍光波長 |
|--------------|-------|-------|
| rBC2LCN-FITC | 495nm | 520nm |
| rBC2LCN-635 | 634nm | 654nm |
- 生細胞染色 1 : 100 ~ 1,000
フローサイトメトリー 1 : 100 ~ 1,000

データ

ヒトiPS細胞の生細胞染色 (Live Cell Imaging)



rBC2LCN, SSEA-4, Tra-1-60 を用いてヒト iPS 細胞 201B7 株を固定せずに染色し、染色 2 時間後の染色像を確認した。rBC2LCN による染色が、各抗体での染色よりも明瞭に細胞を観察することができた。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
NEW 029-19661	BC2LCN Lectin, recombinant, Solution, AF [AiLecS1] 未標識品	細胞培養用	1mg	40,000
NEW 187-03501	rBC2LCN-635, AF [AiLecS1-635]	細胞染色用	100 μ L	35,000
NEW 184-03511	rBC2LCN-FITC, AF	細胞染色用	100 μ L	24,000
NEW 180-03513	[AiLecS1-FITC, AF]	細胞染色用	100 μ L \times 5	96,000

詳細は当社 HP をご覧下さい。

試薬事業トップ→培養→幹細胞用試薬→幹細胞検出・除去→蛍光標識 rBC2LCN (アニマルフリー)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/02154.html>

薬剤候補の有効性・安全性評価に



生体機能チップ(Organ-on-a-chip)

本品は、チップ上の微細な流路内にある多孔質膜の両側で、ヒト生体の臓器から採取した異なる細胞を同時に培養し、肺や腸、肝臓などの複雑な臓器モデルを作製できるチップです。

さらに、流路には伸縮性のある素材を採用しているため、流路に刺激を与えて体内の肺細胞の拡張・伸縮や腸細胞の蠕動運動といった臓器の動きを模倣できるなど、ヒト生体の臓器に近い機能を再現でき、それぞれの臓器の疾患に対する、医薬品候補の有効性・安全性をより高精度に調べる事が可能です。

特長

- 膜を挟んで複数種類の細胞を共培養可能
- Flow条件下で培養可能
- ストレッチ刺激を与えることが可能

CHIP-S1 [®]	POD-1 [®]	ZOE [®] -CM1	ORB [®] -HM1
One chip, Many Organs	Portability & Integration	Automated System	Connects to up to 4 Zoës
Complex & Dynamic	Easy Imaging	Flow	Gas, Power, Stretch
Reproducible Data	Media Flow & Dosing Control	Stretch	Performance Monitoring

※ CHIP-S1[®] 及び POD-1[®] は Basic Research Chip Kit に同梱されています。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
NEW 551-41321	ZOE-CM1	Zoë [®] Culture Module 1 (Zoe-CM1)	1台	11,500,000
NEW 554-41311	ORB-HM1	Orb [®] Hub Module 1 (Orb-HM1)	1台	2,350,000
NEW 551-41181	OBKWOER12	Basic Research Chip Kit-12 pk	1キット	1,150,000
NEW 558-41191	OBKWOER24	Basic Research Chip Kit-24 pk	1キット	2,200,000

Refrigerated (2 ~ 10°C) storage, Frozen (-20°C) storage, Frozen (-80°C) storage, Frozen (-150°C) storage. Displayed without indication is room temperature storage. Other abbreviations are referred to the back cover. Content is as of January 2022. For the latest information, please refer to our website.

東京大学医科学研究所 感染免疫部門 ワクチン科学分野 小檜山 康司

2021年11月16日に第36回Wakoワークショップ「核酸をベースとした免疫制御技術 - mRNA ワクチンの次へ」が秋葉原コンベンションホールおよびウェビナーによるハイブリッドにて開催されました。新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のパンデミックにより、世界中でロックダウン (都市封鎖) が起きるなど多大な影響を与え、2021年11月18日現在、感染者は2.5億人、死者は500万人を超えており、ウイルスの発見から2年弱が経過しようとしているものの、未だ収束には至っていないのが現状です。一方で、新型コロナウイルスに対するワクチンの開発が驚異的なスピードで進み、その中でもmRNAワクチンがウイルス発見から1年を経過せずに開発に成功し、世界中へ供給されています。高い安全性と有効性を示しCOVID-19による死者数を大きく減らすことに成功しており、現在最も注目されているものの、本ワークショップでは、サブタイトルにあるように、mRNAワクチンの次を見据えた核酸研究のエキスパートの6名から、未発表データを含めた、まさに世界最先端の研究成果を紹介していただきました。

最初のセッションはRNAを起点とした生体応答制御機構であり、最初の講演者である東京大学の稲田利文先生が「異常翻訳の品質管理と免疫応答」



オーガナイザーの石井 健 先生

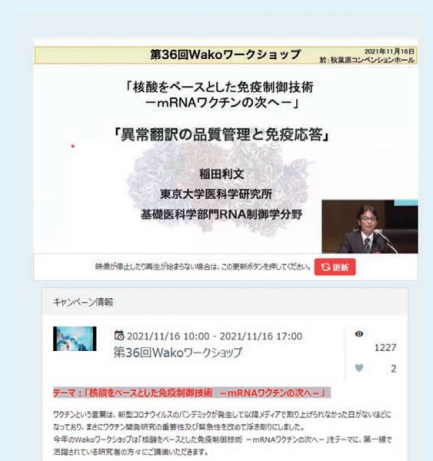
のタイトルでご講演されました。稲田先生はmRNAが翻訳されてタンパク質になる基本的な反応の中に、様々な異常を感知し、遺伝子発現の基本になる制御の仕組みがあり、その実態に関して紹介してくださいました。タンパク質翻訳の効率を上げるためにはmRNA安定性が鍵であるものの分子機構に関しては明らかとされておらず、稲田先生らはポリ (A) の短鎖化酵素であるCCR4-NOT複合体が重要であろうと考え、CCR4-NOTのサブユニットであるNOT5がリボソームに結合するという、分解を担う因子とリボソームが直接相互作用をすることを世界で初めて証明しました。次に異常タンパク質の産生を抑制する翻訳品質管理機構 (RQC : Ribosome-associated Quality Control) に関して紹介してくださいました。ポリ (A) 鎖の翻訳や、非最適コドンが連続した場合、また様々なストレス条件下では、mRNA上で衝突リボソームが高頻度で形成され、衝突リボソームがユビキチン化されることで、最終的に異常タンパク質を速やかに分解へと導くが、正常な分解が起きない条件では、タンパク質の凝集が起こる危険性もあると述べました。稲田先生はこのような解明されていない機構が未だ潜んでおり、今後の基礎研究の大きな課題であるとコメントされています。最後に外来核酸への自然免疫応答と品質管理機構に関してご紹介くださり、自然免疫応答に重要な因子が、衝突リボソームと相互作用し活性化されることが報告され、異常翻訳が生体にとっていかに有害もしく



講演風景

はシグナルにとって重要かを認識したと述べています。このRQCによる異常タンパク質産生を防ぐことは、神経変性疾患に対する有効なアプローチであることが考えられ、この基礎研究の知見が新しい創薬へと発展することを期待します。

次に京都大学の竹内理先生が「mRNA分解による免疫制御と疾患」のタイトルで講演してくださいました。自然免疫細胞が病原体を認識することで、炎症性サイトカインが産生され病原体の排除につながる一方で、過剰な炎症反応により敗血症性ショックや自己免疫疾患などに繋がります。竹内先生は生理的な条件下ではこのような炎症反応は緻密に制御されていると考え研究を行っているとして述べられました。竹内先生はRegnase-1という、直接mRNAを分解する酵素活性を持つ分子を発見し、IL-6などの炎症に関連するmRNAを分解することを見出し、さらには自然免疫のみならず獲得免疫においてもRegnase-1により自己炎症性反応を制御していることを示されました。Regnase-1はヒト疾患とも関連があり潰瘍性大腸炎の患者の上皮ではRegnase-1の変異体が蓄積していることを報告しています。現在までにRegnase-1は特発性肺線維症、潰瘍性大腸炎、がん免疫、多発性硬化症、ウイルス感染制御にまで関与しているこ



ウェブ開催の様子

Wako ワークショップ 見聞録

とが明らかとなりつつあることから、この制御システムが生体の恒常性維持に非常に重要な役割を担っていることが考えられます。最後に竹内先生はRegnase-1による炎症性反応のブレーキを強めることで、炎症性疾患へ応用できないかと考え、Regnase-1の発現を増強させるアンチセンス核酸を用いた結果を紹介しました。このアンチセンス核酸はマウス呼吸促進症候群や肺線維症に対して抑制効果を示し、EAEモデルにより自己免疫応答にも応用可能であることを示しました。竹内先生はRNA分解と免疫制御に関しては不明な点も多く残されているため、今後の研究を進めていきたいと述べています。

次のセクションはDNAを起点とした生体応答制御機構であり、奈良先端科学技術大学院大学の河合太郎先生が「内在性DNAの持つアジュバント効果ならびに炎症性疾患への関与について」のタイトルで講演してくださいました。まず初めにDNAによる抗腫瘍免疫の賦活化に関して紹介してくださいました。河合先生は抗がん剤や放射線によって死滅したがん細胞には免疫を賦活化させる作用があるのではと仮説を立て、研究を開始しています。抗がん剤を用いたスクリーニングを行うことで、トポテカンが免疫応答を強く活性化させる細胞死を誘導することを見出しました。この自然免疫応答の活性化には、細胞質DNAセンサーであるcGAS-STING経路が関与していることを明らかにし、さらに死滅したがん細胞から放出されたエクソソームに含まれるDNAが自然免疫応答を活性化していることを見出しました。河合先生は、これまではがん細胞を死滅させることを主軸として開発が行われてきたが、今後はがん抗原や免疫を活性化する因子をいかに効率よく放出させがん免疫を誘導することに注目して研究を進めていくことが重要であると述べました。次に、イミキモド誘発乾癬様皮



稲田 利文 先生



竹内 理 先生



河合 太郎 先生



田口 友彦 先生



位高 啓史 先生



渡辺 登喜子 先生

膚炎の病態形成に関与するシグナル伝達機構の解析に関して紹介してくださいました。イミキモドはTLR7のリガンドであるものの、イミキモドによって誘導される乾癬様症状はTLR7欠損マウスでも確認されることから、別のシグナル伝達経路が関与しているのではないかと考えました。細胞死に着目したところ、イミキモドがミトコンドリアのROSを介してインフラマソームを活性化し、細胞死を誘導していることを示しました。さらに小胞体ストレス応答も乾癬の病態に寄与していることを示し、イミキモドが樹状細胞の細胞死を誘導し、ミトコンドリアDNA (mitDNA) を放出、ケラチノサイトから放出される抗菌ペプチドがmitDNAと複合体を形成することでpDCを活性化することを見出しました。河合先生は、喫煙によってインフラマソームが活性化されることや、肥満などにより小胞体ストレスが誘導されることから、TLRなどによる生体防御シグナルのみならず、環境応答シグナルのクロストークが様々な疾患の

病態に重要なのではないかと述べられました。

次に東北大学の田口友彦先生が「細胞内物流によるSTINGの活性化制御機構、その破綻に起因する炎症性疾患」のタイトルで講演してくださいました。細胞質内DNAセンサーであるcGASが二本鎖DNAを認識し、cGAMP (cyclic GMP-AMP) を生成し、cGAMPが小胞体に局在するSTINGに結合しTBK1を介した自然免疫応答を活性化します。STINGはウイルス感染に応じて、小胞体から核近縁部に移動することが報告され、この局在の変化が自然免疫応答に重要であるのかに興味を持ち研究を開始したと述べられました。実際に、小胞体に局在しているSTINGが刺激後60分でゴルジ体に、240分後にはリサイクリングエンドソームへと局在を変え最終的に分解されていることを見出しました。TBK1の活性化は40分から60分をピークとしてその後消えていくことが確認されました。STINGの細胞質側における修飾に着目した結果、リガンド依存的に

STINGはゴルジ体でパルミトイル修飾を受け自然免疫応答を活性化していることを見出しました。STINGの変異に起因する自己炎症性疾患としてSAVI（乳児発症STING関連血管炎）が知られており、STINGが恒常的に活性化されることで、全身性の皮膚障害などが確認されています。SAVI特異的変異が入っているSTINGの細胞内局在はゴルジ体に移行しており、またパルミトイル修飾を受けることが活性化には重要であることを見出しました。田口先生はこのパルミトイル化修飾部位がSTINGを介した自己炎症性疾患に対する創薬の標的になるのではと述べられました。次に異なる自己炎症性疾患であるCOPA異常症にもSTINGが関与していることを報告しました。COPA異常症はゴルジ体から小胞体へと輸送を担うCOP-IのサブユニットであるCOPAへの変異が原因であり、田口先生は症状がSAVIに似ている点もあることから、STINGがCOPA異常症に関与しているのではないかと考えました。病気型 COPA変異はSTINGをゴルジ体へと局在させていることを見出しました。細胞内輸送という物流システムこそがSTINGの活性化を巧妙に制御していることを示し、これら物流システムを標的とした新しい創薬が生まれることを期待していると述べられました。

最後のセクションではDNA、RNAによる生体応答制御技術として最初に東京医科歯科大学の位高啓史先生が「mRNA医薬・mRNAワクチンの過去・現在・未来」のタイトルで講演してくださいました。最初に、mRNAはあくまでも情報伝達分子であり、その情報を投与して薬（タンパク質）を体内で産生させる、新しいタイプの医薬品であり、大きな可能性を持っていると述べ、基礎的な観点と臨床応用に関して紹介していただきました。mRNA医薬は標的となる細胞、コードしているタンパク質、投与方法に

よってもタンパク質の発現効率が変化するため、個別に最適化を行う必要があることを示し、研究の余地は大きいと述べました。一方で、治療用mRNAの開発研究は余り多くはなく、位高先生は、変形性関節症および虚血性脳疾患に対しての治療用mRNA医薬の開発研究を紹介してくださいました。変形性関節症では、軟骨や骨の変性進行を直接抑える方法は現状存在せず、軟骨微細構造の再生は非常に難しいため、軟骨誘導性転写因子Runx1のmRNAによって軟骨細胞に直接働きかける治療ができるのではないかと考えました。動物モデルでmRNAを投与すると、実際に軟骨の変性が抑制されました。脳の疾患である虚血性脳疾患では、急性期に細胞が死んでしまい、その壊死部分が拡大してしまうため、神経保護療法が必要であるものの、実用化された薬は存在しないのが現状です。海馬遅発性神経細胞死を誘導するモデルを用いて、BDNF（脳由来神経栄養因子）のmRNAを投与すると、神経細胞死を抑制することを見出しました。mRNAは主にアストロサイトに取り込まれており、アストロサイトがBDNFを分泌することで神経細胞保護に適した微小環境が形成されたのではないかと考察し、mRNAだからこその効果ではないかと述べられました。mRNAワクチンや遺伝子治療用の利点としては高い安全性や汎用性があげられるが、作用が一過性であり標的への選択性の点からも、臨床実施例の蓄積が重要であり、医工薬理の連携がさらに重要であり、低コストで大量生産技術が確立すれば次のブレイクスルーになるのではないかと提言されました。

最後の演者として大阪大学微生物病研究所の渡辺登喜子先生が「ウイルス感染症の制圧を目指して: RNAウイルス感染における宿主応答解析とワクチン開発研究」のタイトルで講演してください、RNAウイルスであるエボラ

ウイルスに関して紹介してくださいました。エボラ出血熱はエボラウイルス感染によって引き起こされ、感染源への接触で体内へ侵入し、ウイルスが樹状細胞などに感染し、リンパ節へと移行、全身臓器への血管内皮細胞や実質細胞へと感染が広がることで、多臓器不全で死に至ります。渡辺先生は、死亡する患者と回復する患者で生体反応の違いを理解することで、感染患者を救えるのではと考え研究を行いました。シエラレオネにおいてエボラウイルス流行時に感染患者の血液検体を解析した結果、サイトカインおよびL-スレオニンとビタミンD結合タンパク質のレベルに顕著な違いが見られたことから、これらがエボラ出血熱の重篤化を予測できるバイオマーカーとして有用であり、感染初期で測定が可能のため、集中治療をすべき患者の特定が可能になると述べました。さらにかなりの割合でエボラウイルスによる不顕性感染があることを示しました。次に、エボラワクチンの開発研究に関してご紹介くださいました。渡辺先生らはエボラウイルスの人工合成系を確立しており、VP30を欠損したウイルス様粒子であるエボラΔVP30ワクチンの開発を試みました。有効性の検証のため、サルを用いた感染実験を行った結果、エボラΔVP30ウイルスで2回免疫したサルでは症状は全く確認されませんでした。エボラΔVP30ウイルスは通常増殖しないが、特定の細胞では増殖するためヒトへ用いることが困難であったが、不活化してもワクチンの効果が確認されました。GMPに準拠して製造した不活化エボラΔVP30ワクチンであるiEvac-Zの安全性と有効性が非臨床試験において確認できたことから第I相試験を日本で開始しました。2019年12月11日に最初のワクチンが接種され、結果としてワクチン接種群で抗体価の上昇が確認されました。抗体の上昇が確認されなかったヒトも確認されたため、今後のオミクス解析を行

Wako ワークショップ 見聞録

うことで、抗体価と相関する因子の同定を行いたいと述べられました。

最後にオーガナイザーである東京大学の石井健先生が、「核酸というキーワードをもとに免疫制御技術そしてmRNAワクチンの次へという題名で各々の分野で最先端の研究を行っている先生方に講演していただいた。色々な分野の色々な領域であり、分子生物学会、RNA学会、生化学会、細胞生物学会、免疫学会、遺伝子治療学会、DDS学会、ウイルス学会、ワクチン学会のシンポジウムに1日かけて行っていただいた感覚を味わっていただけたのではないかと述べ、さらに「残念なのが、この研究者が一つにまとまらず、新型コロナウイルスに対して

我々は戦えなかった反省がある。次のパンデミックに対して、決して今回の様にならないように目指していく感覚が皆様に芽生えてくだされば、本ワークショップが成功したのでは」とまとめました。

核酸を基軸として基礎研究から、臨床応用まで非常に幅広く、中身の濃い発表を聴講させていただきました。次のパンデミックがいつどのように起きるかの予測は難しいですが、石井先生が述べた様に今から将来を見据える必要があると感じました。異分野交流による化学反応により、感染症のみならず様々な疾患を克服するためのイノベーションが起こることを期待します。ハイブリッド開催ではあったた



展示風景

め、現地での聴講者は多くなかったものの最終的に600名近くの方が聴講し盛況に終わったのではないかと思います。最後に本ワークショップの開催にご尽力いただきました富士フイルム和光純薬株式会社の皆様に深く御礼申し上げます。

第36回 Wakoワークショップ

核酸をベースとした免疫制御技術 — mRNAワクチンの次へ —

2021年11月16日(火) 10:00~17:00

【会場】秋葉原コンベンションホール + ウェビナー

日時：2021年11月16日(火) 開場 9:30 開演 10:00~終演 17:00

会場：秋葉原コンベンションホール+ウェビナー (ハイブリッド開催)

総合企画：石井 健 (東京大学医科学研究所 感染免疫部門 ワクチン科学分野 教授)

主催：富士フイルム和光純薬株式会社

〈講演プログラム〉

- 異常翻訳の品質管理と免疫応答 東京大学医科学研究所 基礎医学部 RNA 制御学分野 教授 稲田 利文
- mRNA 分解による免疫制御と疾患 京都大学大学院 医学研究科 分子生体統御学講座医化学分野 教授 竹内 理
- 内在性DNAの持つアジュバント効果ならびに炎症性疾患への関与について 奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子免疫制御研究室 教授 河合 太郎
- 細胞内物流によるSTINGの活性化制御機構、その破綻に起因する炎症性疾患 東北大学大学院 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野 教授 田口 友彦
- mRNA 医薬・mRNA ワクチンの過去・現在・未来 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 生体材料機能医学分野 教授 位高 啓史
- ウイルス感染症の制圧を目指して：RNA ウイルス感染における宿主応答解析とワクチン開発研究 大阪大学微生物病研究所 感染機構研究部門分子ウイルス分野 教授 渡辺登喜子

1. はじめに

菅澤重彦教授(写真1)は長らく東京大学医学部薬学科で、研究・教育に専念した。教授の主催した薬品製造学講座(のちに薬品製造化学講座と改称、通称薬工教室)は、東大薬学科創成期の1907年(明治40年)に教授に就任した丹羽藤吉郎が創始し、その後1922年(大正11年)満州鉄道中央研究所長であった慶松勝左衛門が後を継ぎ、1937年(昭和12年)助教授であった菅澤が教授に昇格、1959年(昭和34年)に定年退官した。

丹羽はカフェイン製造の工業化に成功し、日本薬学会2代会頭、そして主となって創設した日本薬剤師会の会長として医薬分業の達成に努力した。慶松は第一製薬(現在第一三共)の前身であるアーミセン商会を創業、梅毒の治療薬アーミセン[®]を発売し、退職後京都大学薬学科新設にあたり設立委員長として具体的構想に尽力し、また貴族院議員、参議院議員などを歴任するとともに日本薬剤師会の会長も務めた。第3代の菅澤は下記に述べるように医薬の工業的製法に大きく貢献し、日本薬学会会頭、日本学術会議会員、そして日本学士院会員などを歴任、薬学の発展に尽くした。

筆者は菅澤教授の東大時代の最後の弟子であり、多くの諸先輩を差し置いて教授のことを執筆するのははばかれるところであるが、鬼籍に入っておられる先輩方が多いのであえて筆を執った次第である。

2. 生い立ち

菅澤重彦は1898年(明治31年)4月2日、著名な眼科医であった父菅澤武三郎氏の次男として大阪で誕生した(写真2)。小学校には決められた年齢より1年早く入学し、輝かしい伝統を誇る北野中学を1915年(大正4年)に卒業した。ついで京都にあった第三高等学校に入学し野球に熱中し正選手として活躍、タフなスラッガーであったという。その後父の後を



写真1. Heterocycles 菅澤重彦先生記念号より(80歳)

継ぐため医科大学に入学したが、解剖学より有機化学が好きになってしまった。そして1919年(大正8年)当時有機化学のメッカとされた、東京帝国大学医学部薬学科に入学した。

3. 学位論文

1922年(大正11年)に卒業すると大学院に入学、薬品製造学講座の慶松勝左衛門教授に師事した。菅澤の最初の報文はアクロレインからの味の素の主成分グルタミン酸のラセミ体の合成であった。その後悪臭かつ当時得難かったアクロレインに代えて、コハク酸エチルから3-ホルミルプロピオン酸エチルを合成し、アミノトリルを経てラセミ-グルタミン酸の改良合成法を確立した。この方法は工業的に用



写真2. 登録有形文化財(建築物)旧菅澤眼科病院 1929年(昭和4年)建築

いられることはなかったが、30年後米国DuPont社が“oxo process”によって菅澤法の間体3-ホルミルプロピオン酸エチルあるいは等価体を用いて、工業的にラセミ-グルタミン酸を生産するようになった。

菅澤はさらにリジン、オルニチンの新規合成法を開発し、グルタミン酸の合成と合わせて「グルタミン酸、リジン及びオルニチンの合成研究」という題目で1927年(昭和2年)秋半ばに学位論文を提出、博士号を取得したのは翌年秋半ば過ぎであった。そして慶松から暫くどこかへ留学してはとすすめられ、その当時イギリスの有機化学界の新進気鋭の研究者として世界的な名声を博していたRobert Robinson教授(写真3)の許へ留学したいと申し出許可を得た。そして父君に相談したところ留学費用一切について面倒を見ると快諾を得た。菅澤はRobinson教授と交際しておられた朝比奈泰彦教授(和光純薬時報77(3), 29(2009), 化学大家412参照)にお願いしてRobinson教授に問い合わせてもらったところ、お許しを得て1929年(昭和4年)2月末日本を出発渡英の途についた。その際にマンチェスター大学で指導を受けて帰朝、当時徳島高等工業専門学校製薬学科の科長、教授をしていた篠田淳三博士からもRobinson教授への紹介状をもらったという。

学位取得後、菅澤が慶松より指示された最初のテーマはコカイン合成に関するものであった。そして文献調査中たまたま目に留まったのが、Robinson教授

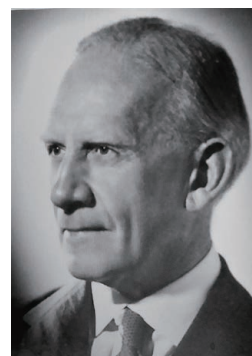


写真3. Robert Robinson 教授

が1917年（大正6年）英国化学会誌に発表した各種アルカロイドの生合成に関する論文で、これを熟読してすっかりRobinson熱に取り付かれてしまったという。そして朝比奈教授にお願いして英国化学会会員になり、英国化学会誌に次から次へと発表されたRobinson教授の報文をすべて読むことを心掛けた。1923年から1925年（大正12年～14年）にわたって発表されたモルフィンの化学構造に関する報文は、それまで発表されていた数多くのモルフィンの化学構造式の誤りを指摘し全く新しい構造を提唱し、これが正しいものであることは約20年余の後1947年（昭和22年）頃に証明され1953年（昭和28年）には米国Gates教授によって初の全合成もなされた。上記論文により菅澤のRobinson熱はいやが上にも高まり、留学先に躊躇なくRobinson教授を選んだわけである。

4. Robinson教授の許で

Robinson教授は菅澤の留学の前年1928年（昭和3年）にマンチェスター大学からロンドン大学のUniversity Collegeに転任、そして在任わずか2年で、この年亡くなった恩師のW. H. Perkin jun.教授の後任として1930年（昭和5年）の夏オックスフォード大学へ転任した。菅澤もRobinson教授についてロンドン大学からオックスフォード大学へ移った。すなわち菅澤は在英2年10カ月の丁度前半をロンドン、後半をオックスフォードで過ごしたことになるが、菅澤によるとオックスフォード大学はロンドン大学に比べて、環境も静かで実験室設備もよく、仕事の能率も上がったという。また研究室の同僚としてAlexander Todd教授（1957年核酸化学の研究でノーベル賞を受賞）がいた。

Robinson教授の許で、菅澤はモルフィンまたはその類似物質の合成研究を行ったが、研究報文5報のうち最も特筆すべきは、通常天然物が発見されてから合成が行われるのが一般であるが、その逆に天然物が発見される前に合成が行われた研究である。すなわちモルフィナン骨格

の合成を目指して、ラウダノゾリンの脱水素反応を行ったところ得られたものは予期に反してピロコリン誘導体であった。そして後年オーストラリアの植物からこのアルカロイド4級塩が発見されたのである。これが後に“*Inversion of order*”と言われた研究であった。

1947年（昭和22年）Robinson教授はアルカロイドの研究によりノーベル化学賞を受賞したが、Woodward教授（米国ハーバード大学、1965年（昭和40年）天然物合成でノーベル化学賞受賞）と図って、1957年（昭和32年）有機化学の国際誌Tetrahedronならびに1959年（昭和34年）速報誌Tetrahedron Lettersを創始したが、菅澤も編集顧問に就任している。

5. 帰国後の研究—帝国学士院賞を受賞

1932年（昭和7年）、慶松教授より急遽帰国せよという命令を受けて帰国した菅澤は、すぐに助教授に昇任しその5年後の1937年（昭和12年）、慶松の後を受けて教授に就任した。助教授の仕事は卒業実習の3年生の相談相手と、1年生への無機薬品製造学の中の金属部門の講義で、この講義は菅澤にとって重荷であり頭痛の種であったという。研究面は慶松から「自由にやり給え」と言われ、在英中少しやり残したことと、プリメチンなどフラボンの合成研究を行った。その後含窒素ヘテロ環化合物の合成、そして当時ほとんどが未知であった、理論上可能な7種類のジベンゾキノリジンならびに数種のジベンゾインドリジンの合成に成功した。この合成研究によって1943年（昭和18年）菅澤は帝国学士院より帝国学士院東宮御成婚記念賞を授与された。当時徐々に第二次世界大戦の戦局は厳しくなり研究面でも支障が出てきたが、菅澤は東京を離れることなく研究・教育に邁進した。菅澤教授の後継者となった故山田俊一教授によると、菅澤は自分の経験・文献などをよく覚えていて色々と核心に触れる指導を行い、例えば再結晶溶媒に困ったときには、遊離の酢酸を除いた無

水酢酸かピリジンで再結晶を試みるよう推奨などしたという。

6. 含窒素ヘテロ環化合物の構築並びに医薬品の合成

終戦後日本は被占領時代の混乱を経て復興して来たが、菅澤は様々な新規合成反応を開発し、それを鍵反応として様々な含窒素ヘテロ環化合物・天然物の合成方法を確立し、さらに医薬品の合成を行った。詳しくは菅澤の弟子の亀谷哲治教授（東北大学）が創始した国際誌Heterocyclesが菅澤の80歳の記念号を出したとき、菅澤門下の最も優秀な弟子の一人故伴義雄教授（北海道大学学長）の総説に明らかである（参考文献2参照）。

菅澤は1日1回は研究室を回り「○○君どうです」と学生に実験結果を聞き指導に当たったが、研究熱心な学生にはよく面倒を見、一方研究不熱心な学生には怖い存在であり、陰で天ちゃんと言われていた。このように良く学生の面倒を見たので、他の研究室の学生からは羨ましがられた。菅澤の明るくユウモラスでフランクな態度とともに、大音声の黒板書きの分かりやすい講義は学生の人気を集めた。菅澤は東大在職中、通常大学へは7時ごろに来て、4時ごろには帰宅していたが、これは中央線のものすごい通勤ラッシュを避けるためであったという。

菅澤の医薬品との関りは、合成抗菌剤スルファメラジンの新製法を開発、抗ヒスタミン薬の改良合成、気管支拡張薬トリメトキノール塩酸塩（イノリン）の発見と合成、抗マalaria薬の研究、難溶性止血薬の可溶化などを行った。トリメトキノールは菅澤研で金岡祐一教授（北海道大学）が合成したベンジルテトラヒドロイソキノリン誘導体で、菅澤が東京大学を定年退職後田辺製薬の顧問に就任したとき、それまでに菅澤研で合成した化合物群の薬理作用を調べた際発見された医薬品である。また菅澤は抗フィラリア症薬ジエチルカルバマジン（DEC）の合成方法を確立し田辺製薬が製造・販売した。フィラリア



写真4. 白衣姿の菅澤先生（1959年（昭和34年））

症の病原体は線虫の一種糸状虫で蚊によって媒介される。我が国ではフィラリア症は完全に撲滅されたが、治療薬としてDECの役割は極めて重要であった。もともとDECは当時駆虫薬として使用されていたミブヨモギから抽出されるサントニンが輸入困難になりその代わりに使用されたが、サントニンより駆虫効力が高いので「スーパーサントニン」という意味で「スパトニン」と呼ばれていた。そしてフィラリアに有効であることが分かり、我が国は世界に先駆けてフィラリア症根絶国となった。DECは今でもフィラリア症流行地で用いられている。2010年エーザイは22億錠のDECを蔓延地域26か国に無償で提供するという契約をWHO（世界保健機関）と締結している。

7. 定年後田辺製薬へ

先に述べたように菅澤は東京大学を1959年（昭和34年）定年退職後、田辺製薬東京研究所の特別顧問に就任した（写真4）。菅澤研究室出身者は「菅澤先生を囲む会」という同窓会を作っていたが、メンバーは約200余名で田辺の研究所にも「囲む会」の会員が沢山いた。菅澤は特に入社間もない若い研究員の指導を行ったが、菅澤によると「毎日社、青、若各年層の研究員のメンバーと顔を合わせ若い彼らのホルモンを吸収して老化防止に努めている」ということであった。

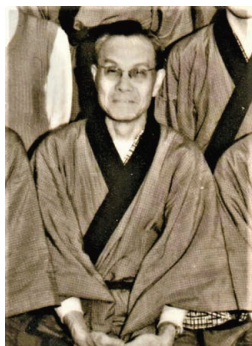


写真5. 東大菅澤研究室最後の研究室旅行にて（1959年（昭和34年））

菅澤は先に述べた山田俊一教授を始めとして、亀谷哲治教授、伴義雄教授、金岡祐一教授、田村恭光教授（大阪大学）、米光宰教授（北海道大学）、日野亨教授（千葉大学）、藤井澄三教授（金沢大学）、大石武学長（明治薬科大学）、松尾壽之国立循環器病研究センター所長、荒田洋治教授（東京大学）など多数の優秀な弟子を育成した（写真5）。そして1978年（昭和53年）勲二等瑞宝章の荣誉に浴した。また菅澤の有機合成化学における長年の特筆すべき貢献をたたえ、1987年（昭和62年）有機合成化学協会より有機合成化学特別賞を授与された。

8. スポーツ・お身体・お身内

菅澤重彦とスポーツといえば、やはりゴルフであろう。菅澤は若いころからゴルフに親しみ、週一回はゴルフの名門カントリーである小金井カントリー倶楽部に行きゴルフを楽しんだ。小金井では新規に会員になるとき審査があるが、菅澤は審査委員長を務めた。ここでは故田中角栄元首相とも会っているという。若い時菅澤はアマチュア向けの「東久邇宮杯コンペ」で2度優勝している。菅澤は80歳を過ぎて、たまたま体調不良になった時医師からゴルフを止めるように言われ、「囲む会」の会合で「最近何が残念かと言えば医師にゴルフを禁止されたことだ」と言っていた。

菅澤はスマートな体形をしていて、いつもきちんとした服装をした英国型紳士で

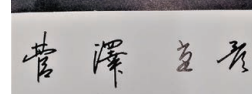


写真6. 「菅澤重彦先生生誕七十五年記念論文集」より

あった（写真6）。そして酒も煙草もたしなまなかったが、生来消化器が弱くて年とともに体重も減少し、菅澤自身「裸になると人体骸骨の見本を見るようだ」と言っていたが、眼も耳も不自由なこともなく亡くなるまで特に大病もせず、寝たきりになることもなく過ごしていたが、1991年（平成3年）2-3か月の闘病後肺炎で逝去した。夫人は1958年（昭和33年）菅澤が東大在職中に亡くなったが、それより先長女温子さんは1946年（昭和21年）に世を去った。しかし素晴らしい子息をお持ちになった。長男清志氏はダイキン工業の会長、次男の武彦氏は三菱樹脂の社長を務め実業界を牽引した。

謝辞

本稿の執筆をお勧め頂き資料などを提供して頂いた松本和男博士（元田辺製薬、(株) ナールスコアポレーション代表取締役会長）に心から感謝します。また写真ならびに助言など頂いた柴崎正勝微生物化学研究会理事長ならびに川村邦夫博士（元武田薬品）に感謝致します。

【参考文献】

- 1) 菅澤重彦先生生誕七十五年記念論文集刊行委員会編：「菅澤重彦先生生誕七十五年記念論文集」（廣川書店）（1972）。本書の中に菅澤自身が執筆した「続つれづれの記」がある。
- 2) Ban, Y.: *Heterocycles*, 8, 3 (1977).
- 3) 北潔：日薬理誌, 149, 214 (2017).

ヒトインスリンの測定に！

レビス[®] インスリン-ヒト (発光系)

本品は、ヒトインスリンを定量的に測定するためのサンドイッチELISAキットです。ヒト血清または血漿、培養上清、細胞抽出液中のインスリンを測定できます。

検出に発光系を用いることにより、低濃度域から高濃度域までをカバーできるようワイドレンジ化を行いました。そのため1つのキットで絶食検体から食後検体までの測定をほぼカバーすることができ、再測定が必要になる可能性が低くなります。貴重な検体、時間を有効に使用できることは大きなメリットとなります。

特長

- **ワイドレンジ**：38.1pg/mL～20,000pg/mL
再測定の頻度が減少！絶食後/食後の検体を別タイプで測定する必要がありません。
- **少量検体**：5μL/ウェル
同一検体で多項目を測定したい貴重な検体を節約できます！



性能

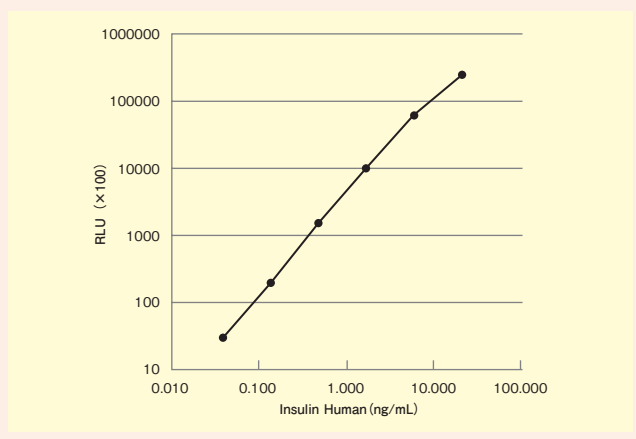
測定対象	ヒトインスリン
検体	ヒト血清・血漿、培養上清、細胞抽出液
検量線範囲	38.1pg/mL ~ 20,000pg/mL
必要検体量	5μL
測定時間	約2時間
検出用	発光系 ※測定には発光プレートリーダーが必要です。

キット構成

- 抗体固相化96ウェルプレート 96wells(8×12列)/1枚
- 標準ヒトインスリン溶液 (200ng/mL) 50μL/1本
- 緩衝液 60mL/1本
- ペルオキシダーゼ結合抗インスリン抗体 100μL/1本
- 発光試薬1 6mL/1本
- 発光試薬2 6mL/1本
- 濃縮洗浄液 (10×) 100mL/1本
- プレートシール 1枚

データ

標準曲線 (例)



検体測定 (例)

培地	希釈	測定値 (ng/mL)		mean	回収率 (%)
RPMI-1640 [コード No. 189-02025]	×1	8.86	9.84	9.35	93.5
	×2	5.33	5.33	5.33	107
	×4	2.73	2.92	2.82	113
	×8	1.338	1.429	1.384	111
	×16	0.669	0.713	0.691	111
	×32	0.351	0.363	0.357	114

未使用の培地にインスリンを添加し連続的に希釈用緩衝液で6段階希釈し測定

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
634-52911	AKH-INSL	LBIS Human Insulin ELISA Kit (Luminescent type) ^{Ref2}	96回用	56,000

^{Ref1}…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。
 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…カルタヘナ法
^覚…覚せい剤取締法 ^{国保}…国民保護法
 掲載内容は、2022年1月時点での情報です。上記以外の法律及び最新情報は、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. 90 No. 1
 2022年1月15日発行
 発行責任者 増田雅信
 編集責任者 門 紗希
 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://fujifilm.com/ffwk>
 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)
 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