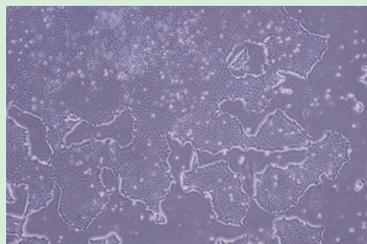


和光純薬時報

October 2023
Vol.91 No.4



播種時に Y-27632 を添加したヒト iPS 細胞

【総説】

「LA-ICP-MS法による定量分析のための標準試料Solid scaleの開発とその応用例」

寺尾 祐子、椛山 卓郎、平兮 康彦、佐藤 琢也、岩戸 薫、宮下 陽介、平田 岳史…………… 2

「環境調和型エーテル系溶媒「MTHP」」

齊藤 勇祐…………… 6

「炎症時におけるミクログリアのダイナミクス」

宮田 清司…………… 10

【連載】

〈LC-MS 分析 –測定原理から様々な分野での活用例–〉 **新連載**

「第1回 LC-MS の基礎と LCMS-2050 の特長」

小寺澤 功明…………… 13

〈フロー合成の魅力 ~安全・高効率なグリーンものづくりへ~〉

「第2回 フロー合成の基礎 ~要素技術と設計~」

間瀬 暢之…………… 17

〈幹細胞由来 EV ~治療、診断、化粧品への展開~〉

「第4回 細胞外小胞の産業化に向けた標準開発の取り組み」

河内 幾生…………… 21

【化学大家】

「パーシー・ラヴォン・ジュリアン」

中村 幹夫…………… 33

【製品紹介】

医薬品製造・品質管理

CertiProシリーズ…………… 29

有機合成

環状エーテル系溶剤MTHP …………… 9

Pd/C, 球状、Pt/C, 球状…………… 20

核酸合成用試薬…………… 25, 26

機能性ポリマー …………… 26

分析

Solid scale™ LA-ICP-MS用標準試料セット …………… 5

認証標準物質 元素標準液 (CRM) …………… 27

ポジティブリスト関連農薬・動物用医薬品標準品 …………… 27

(R)-BiAC誘導体化試薬セット …………… 28

ラボウェア

ガロテクト™ (赤) …………… 28

免疫

抗Iba1, ウサギモノクローナル抗体(6A4), 組換え体 … 12

抗MAP2, モルモット

抗バルブアルブミン, モルモット

抗オキシトシン, モルモット …………… 29, 30

培養

Y-27632 (GMP準拠) …………… 31

VEGF-165溶液, ヒト, 組換え体 …………… 32

遺伝子

0.5mol/L TCEP溶液, 中性 …………… 32

【お知らせ】

エクソソーム関連インハウスセミナーのご案内 …………… 24

和光純薬時報 Vol.91 No.3 訂正案内 …………… 27

医薬品製造用原料 CertiPro シリーズカタログのご案内 …………… 29

iPS細胞培養関連試薬・機器カタログのご案内 …………… 31

第38回 Wako ワークショップ開催のご案内 …………… 36

1 はじめに

1980年にHoukらによって報告された誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS法)¹⁾ は、周期表のほとんどすべての元素を高い効率でイオン化できることから、高感度かつ迅速な元素分析法として様々な分野で広く活用されている。ICP-MS法はイオン源が大気圧であるため、分析目的に応じて様々な試料導入法の適用が可能だが、現在、最も完成度が高く、汎用されているのは、溶液試料をネブライザーでプラズマに噴霧してイオン化する溶液噴霧導入法である。一方で、溶液噴霧導入法で難溶解性固体試料を分析する場合、酸による化学分解などで溶液化する必要があり、危険性の高い強酸 (硫酸やフッ酸など) を使用すること、前処理時に試料汚染する可能性があること、また、溶媒による試料希釈 (場合によっては1/1,000以下に希釈) などの課題があった。これらの課題を解決するため、固体試料を溶液化せず、そのまま直接分析する手法として開発された手法が、試料導入にレーザーアブレーション現象 (LA) を利用するLA-ICP-MS法である^{2,3)}。LA試料導入法を用いることにより、固体試料を前処理なしで迅速に分析できるだけでなく、固体試料中の局所分析やイメージング分析が可能となった。本稿では、LA-ICP-MS法による定量分析に必要な標準試料「Solid scale」の開発の経緯とそのキャラクターゼーション結果、および応用例について紹介する。

2 LA-ICP-MS 法

固体試料にレーザーを照射すると、レーザーの光エネルギーが熱エネルギーに変換され、照射部分の温度が急激に上昇し (条件によっては10,000℃を超えることもある)、試料構成元素が爆発的に気化、あるいはエアロゾル

化される。これがレーザーアブレーション現象の概要であり、このようにして生じた試料エアロゾルをヘリウムなどのキャリアガスでプラズマイオン源に導入して質量分析するのがLA-ICP-MS法である。

アブレーション用レーザーとしては、ナノ秒 (ns、 10^{-9} 秒) のパルス幅を有するNd : YAGレーザーの第5高調波 (213 nm) やフェムト秒 (fs、 10^{-15} 秒) のパルス幅を有するTi : Sapphireレーザーの第3高調波 (260 nm) などの短波長でパルス幅の短いレーザーが用いられる。このような紫外域の短パルスレーザーを用いるのは、元素分別効果 (固体試料の化学組成とアブレーションで発生した試料エアロゾルの化学組成が一致しない現象) を抑制し、正確な分析を行うためである。短波長レーザーを用いることで試料エアロゾルを小さくすることができ、これにより、プラズマ内でのイオン化を促進し元素分別を抑制できるだけでなく (系統誤差低減)、プラズマ温度の低下によるマトリックス効果増大やスパイク状の信号も抑制できる (偶然誤差低減)。

また、フェムト秒レーザーのような極短パルスレーザーを用いることにより、従来は困難であった金属のような高い熱伝導性を有する試料を分析することが可能となった。これは、レーザーのパルス幅と試料の熱伝導の時間スケールの関係から理解できる。金属の熱伝導の時間スケールはおおよそ1ピコ秒 (ps、 10^{-12} 秒) であることが知られている。試料の熱伝導の時間スケールより長いパルスレーザーを用いると、アブレーション現象が起こる前に熱が拡散してしまい、金属試料の融解や衝撃による飛散が生じ、再現性良く試料エアロゾルをイオン源であるプラズマに導入することができない。熱拡散の影響を抑制して金属試料を再現性良くエアロゾル化するためには、フェムト秒の時間幅を持つ極短パルスを用

いればよいと考えられる。実際に、フェムト秒レーザーを用いたLA-ICP-MS法により、鉄鋼試料中の微量元素を前処理なしで直接分析した事例が報告されている⁴⁾。

フェムト秒レーザーの導入と並ぶもうひとつの大きな進展として、高速多点レーザーアブレーション法が開発されたことがあげられる。この手法の特徴は、従来のように試料ステージを動かすのではなく、可動鏡 (ガルバノミラー) の角度を精密かつ高速に制御することで、レーザー照射位置を正確かつ高速に移動する手法である^{5,6)}。例えば、照射位置移動速度10 m/s以上、2 cmの範囲内では1 μ mの位置分解能での分析が可能であると報告されている⁷⁾。なお、高速多点レーザーアブレーション法においては、ガルバノミラーが有する高速走査性に追従できる発振周波数 (1 kHz以上) のパルスレーザーが必要になる。この点においても、1 MHz程度 (1秒間に100万回レーザー照射) で発振可能なフェムト秒レーザーとの組み合わせが理想的と考えられる。

フェムト秒レーザーを用いた高速多点レーザーアブレーション法 (以下、fsLA-ICP-MS法と略記) の特徴を活かした事例として、Agナノ粒子をタマネギの細胞組織に暴露した試料を用いて、Agナノ粒子と溶存Ag成分を弁別してイメージング分析した例が報告されている⁸⁾。この事例は、TOF-SIMSなど真空系を必須とする分析法と異なり、試料室が大気圧であるLA-ICP-MS法が生体材料の優れたイメージング法となることを示したものである。また、fsLA-ICP-MS法により、複数の固体試料をあたかも溶液を混合するようにエアロゾル中で混合できるので、適切な標準試料を作製できれば、これまでLA-ICP-MS法の課題とされてきた定量分析 (検量線法、内部標準法、標準添加法) が可能となる。以下、我々が開発したLA-ICP-MS法による

定量分析のための標準試料Solid scaleについて述べる。

3 標準試料 Solid scale の開発

これまで、LA-ICP-MS法で定量分析を行う場合、標準物質としてガラス標準物質や鉄鋼標準物質などが用いられてきた。これらは含まれている元素種や濃度が限定されており、それらが分析対象と一致しない場合は使用が困難だった。また、分析対象とのマトリックスの違いによるICP-MS信号強度の変化が問題となり、試料中の元素濃度を正確に測定できない場合があった。そこで、我々は、生体材料も視野に入れ、有機マトリックスを用いた標準試料を開発することとした。標準試料を作成するためには、複数の元素を μm 以下のオーダーで均一に分散する技術、低エネルギーで高速多点アブレーションするために必要な有機マトリックス（超高純度ポリマー）の合成技術、および均一なナノ薄膜の製膜技術が必要となるが、これらは全てFUJIFILMグループのコア技術である。これまでの研究開発で培ったナノ分散技術、超高純度ポリマー合成技術、精密塗布技術を駆使して、有機薄膜をマトリックスとした新たな標準物質「Solid scale」を開発した。

4 標準試料 Solid scale の特性

開発した標準試料「Solid scale」の外観を図1に、仕様を表1に示す。超高純度ポリマーを主成分としたナノ薄膜（シリコンウエハ上に成膜）にNa, Al, Mg, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pbの18種類の元素を均一に分散させたものである。膜厚が500 nmと非常に薄いので、低エネルギーで薄膜試料部が全てアブレーション可能である。各元素の濃度につ

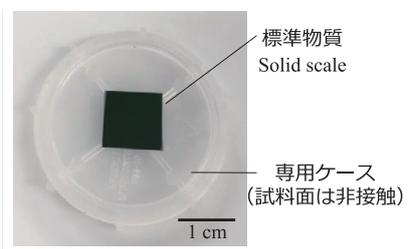


図1. 開発した標準試料 Solid scale の外観

表1. 標準試料 Solid scale の仕様

項目	仕様
膜厚	500 nm (光学式膜厚計測定)
膜厚バラつき	±5%以下
含有元素	Na, Mg, Al, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb (18元素)
元素濃度 (原子数)	元素濃度 0, 0.1, 1, 10, 100 mg/kg Feの場合 $0, 5.7 \times 10^{10}, 5.7 \times 10^{11}, 5.7 \times 10^{12}, 5.7 \times 10^{13}$ 個/cm ²
マトリックス	超高純度ポリマー
基板種類	Siウエハ
基板サイズ	1.0 cm × 1.0 cm

表2. 実験に用いた測定条件

レーザーアブレーション		ICP-MS			
波長 (nm)	260				
パワー (J/cm ²)	0.5-1.5				
パルス幅 (fs)	247				
周波数 (Hz)	10,000				
スキャン速度 (mm/s)	45				
キャリアガス (L/min)	He:0.6, Ar:1.1				
		Mode1	Mode2	Mode3	
		H ₂	He	no gas	
		セルガス流速 (mL/min)	4	4	—
		RFパワー (W)	1550		
		冷却ガス流速 (L/min)	14		
		補助ガス流速 (L/min)	0.8		

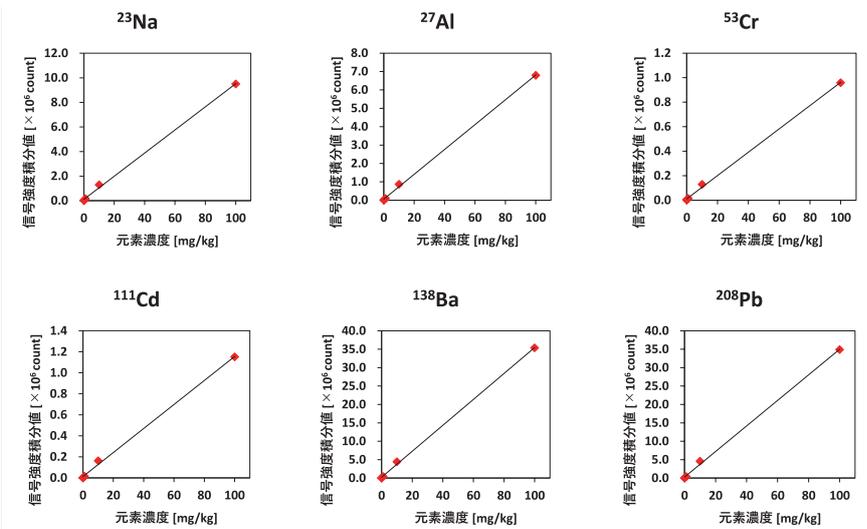


図2. 代表的な6元素の処方値とICP-MS信号の直線性

いては、ブランク（含有元素なし）、および0.1 mg/kgから100 mg/kgまでの幅広い範囲をカバーしており、様々な定量分析の濃度校正に使用することができる。以下、Solid scaleのLA-ICP-MS信号の直線性、面内均一性、および経時安定性を調べた結果を紹介する。実験条件を表2に示す。レーザーアブレーションは、すべての測定においてガルバノメトリック光学系を使用して行った。また、ICP-MS信号の直線性評価はMode 1、試料面内の均一

性評価（6ヵ月経時品、調製直後品）はそれぞれMode 2, 3の条件にて実施した。

信号強度の直線性

元素含有量0, 0.1, 1, 10, 100 mg/kgであるSolid scaleの濃度処方値とLA-ICP-MS信号強度の関係を調べた。代表的な6種の元素のICP-MS信号の直線性評価結果を図2に、全18種の元素の相関係数を表3に示す。18元素全ての相関係数は0.999以上と非常に高く、検量線精度が高いことがわかった。

Solid scaleを用いることにより、幅広い濃度域での定量分析が可能になると考えられる。

面内均一性

Solid scaleの面内の均一性を調べた結果を表4（変動係数）に示す。濃度100 mg/kgのSolid scale（1 cm角）の9領域（各領域の大きさ：2 mm角、領域の間隔：1 mm）のLA-ICP-MS信号強度を比較した。どの元素も変動係数は5%未満であり、面内の均一性が非常に高いとわかった。

経時安定性

Solid scaleを専用容器に入れて、大気下室温で6ヶ月間保管した後、LA-ICP-MS信号の直線性と面内均一性を調べた（表4）。信号の直線性、面内ばらつきともに、調製直後品と同様であり6ヶ月経時しても変化しないことがわかった。Solid scaleは、調製後、少なくとも6ヶ月間は安定に使用できると考えられる。なお、⁴³Caの相関係数がやや低いのは、He-KEDで測定したことにより、感度が低下したためと考察した（表3はH₂モードで測定）。

LA-ICP-MS信号の直線性、面内均一性、および経時安定性の評価結果より、開発した標準試料Solid scaleは、幅広い濃度領域における高精度な定量分析に活用できるものと期待される。

5 応用例

Solid scaleを用いた定量分析事例として、ポリマーフィルム中の元素定量と多検体定量分析の効率化を紹介する。なお、測定はそれぞれ表2のMode 3、2にて実施した。

ポリマーフィルム中の元素定量

厚さ100 μm程度のPETフィルム中のTi（TiO₂）を前処理なしで定量した。はじめに、Solid scale 0 mg/kg（金属元素を含まないブランク膜）と100 mg/kgの基板上の標準試料層を2 mm角、3 mm角、4 mm角を全層アブレーションして検量線を作成した（図

表 3. 相関係数 (r)

元素	r
²³ Na	0.9994
²⁵ Mg	0.9995
²⁷ Al	0.9996
⁴³ Ca	0.9975
⁴⁸ Ti	0.9997
⁵¹ V	0.9995
⁵³ Cr	0.9995
⁵⁵ Mn	0.9996
⁵⁷ Fe	0.9998
⁶⁰ Ni	0.9996
⁶⁵ Cu	0.9995
⁶⁶ Zn	0.9992
⁹⁵ Mo	0.9998
¹⁰⁷ Ag	0.9999
¹¹¹ Cd	0.9991
¹¹⁸ Sn	0.9998
¹³⁸ Ba	0.9997
²⁰⁸ Pb	0.9995

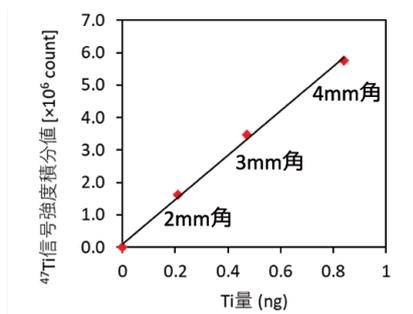


図 3. Solid scale で作成した Ti の検量線

3)。次に、フィルム試料の2 mm角を分析した。フィルム試料の正確なアブレーション量を知る手法としてアブレーション深さを触針式段差計で測定する方法や¹³Cの信号強度から見積もる手法が知られている。今回は、膜厚既知のSolid scaleの¹³Cの信号強度を基準にして、式①を用いて試料のアブレーション重量 (M^{Sam}) を求めた。

式①

$$M^{Sam} = M^{STD} \times \frac{I_{^{13}C}^{Sam} / C_c^{Sam}}{I_{^{13}C}^{STD} / C_c^{STD}}$$

ここで、 M^{STD} はSolid scaleのアブレーション重量、 $I_{^{13}C}$ は¹³Cの信号強度、 C_c は試料中のC含率を示す。図4にTiの定量結果を示す。検証のため、別途

表 4. 面内均一性と経時安定性

	相関係数 (r)		変動係数 (%)	
	直後	6ヶ月後	直後	6ヶ月後
²³ Na	0.9997	0.9996	2.0	1.1
²⁵ Mg	1.0000	0.9997	1.9	1.5
²⁷ Al	1.0000	0.9999	2.3	2.8
⁴³ Ca	0.9979	0.9949	3.1	3.6
⁴⁸ Ti	1.0000	0.9998	2.5	2.9
⁵¹ V	0.9999	0.9999	4.8	4.3
⁵³ Cr	1.0000	0.9997	3.2	2.8
⁵⁵ Mn	1.0000	0.9998	3.5	2.4
⁵⁷ Fe	0.9999	0.9999	4.4	4.4
⁶⁰ Ni	1.0000	0.9998	3.4	1.8
⁶⁵ Cu	1.0000	0.9996	3.4	1.8
⁶⁶ Zn	0.9997	0.9990	2.8	2.2
⁹⁵ Mo	0.9999	1.0000	3.4	2.4
¹⁰⁷ Ag	1.0000	0.9994	2.0	1.7
¹¹¹ Cd	0.9996	0.9993	2.0	1.4
¹¹⁸ Sn	1.0000	0.9996	2.5	1.5
¹³⁸ Ba	1.0000	0.9998	2.3	1.6
²⁰⁸ Pb	1.0000	0.9997	2.1	1.5

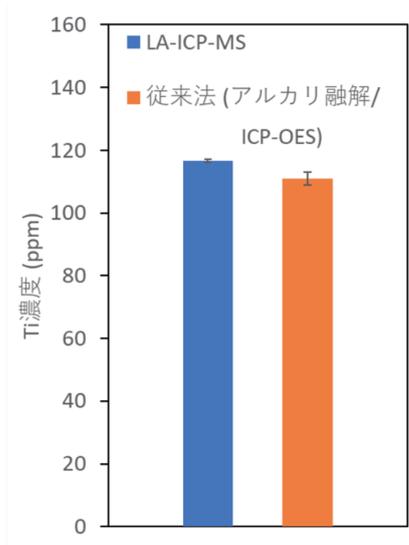


図 4. Tiの定量結果（従来法の結果を併記）
エラーバー：位置違い（3か所）の標準偏差

アルカリ融解法で求めた値と誤差5%以内で一致しており、Solid scaleを用いて正確な定量分析ができるとわかった。

多検体定量分析の効率化

LA-ICP-MS法は、試料交換が容易でガラス器具の洗浄などの手間がかからないことから、固体試料の直接分析のみならず、液体試料の迅速分析法としても活用できると考えられる。液体試料の多検体定量分析の効率化を目的

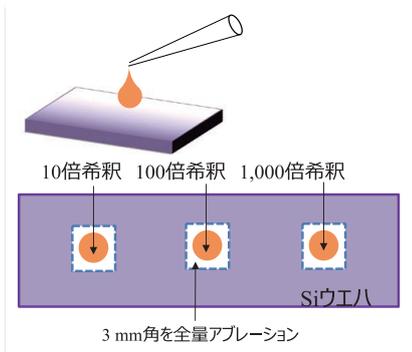


図5. 液体培地の前処理スキーム

として、細胞培養に用いる液体培地中の元素定量を検討した事例を紹介する。

液体培地中の元素濃度分布は非常に広く、濃度範囲が6桁以上にわたることも少なくない。LA-ICP-MS法で、液体試料を分析するスキームを図5に示す。まず、液体培地を10倍、100倍、1,000倍に希釈し、各試料1 μ Lをシリコンウエハ上に滴下乾燥させ、約2 mm Φ の試料スポットを得た。次に試料スポットを含む3 mm角をソフトアブレーション⁹⁾することにより、シリコンウエハ上の試料を全量アブレーションした。定量は、0、0.1、1、10、100 mg/kgのSolid scaleを用いて作製した検量線を使って実施した。結果を図6に示す。Naのように数1,000 ppm含有されている成分から、Baのように数ppbと極微量な成分まで、従来の灰化/ICP-OES、MSでの定量結果と誤差20%以内で一致した。このことから、LA-ICP-MS法で液体試料の多検体定量分析を大幅に迅速化できると期待される。

6 おわりに

LA-ICP-MS法は、現在最も注目さ

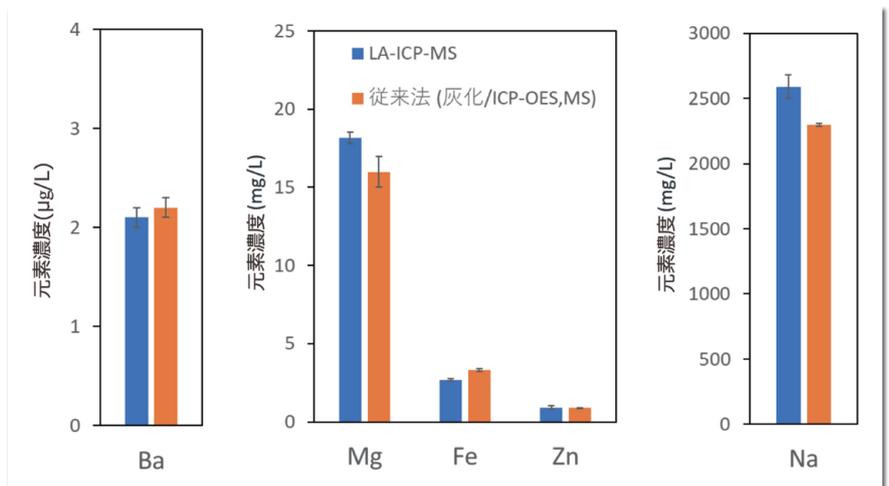


図6. 液体培地に含まれる元素の定量結果（従来法の結果を併記）

れている元素分析法のひとつである。なかでもフェムト秒レーザーとガルバノメトリック光学系を組み合わせたfsLA-ICP-MS法は、固体試料を前処理なしで直接分析できるだけでなく、生体試料を含む機能材料のイメージング分析、さらには液体試料の多検体定量分析の迅速化も可能とする画期的な分析手法である。課題であった定量分析に関しても、本稿で述べた標準試料Solid scaleなどを活用することで可能となった¹⁰⁾。開発したSolid scaleがLA-ICP-MS法のさらなる発展に寄与し、本小稿が少しでも読者諸氏の参考になれば幸いです。

開発にあたり、産業技術総合研究所の横納 好岐博士、同 山下 修司博士、富士フイルム株式会社 鈴木 真由美フェローには、多大なご助言をいただきました。また、東京大学大学院 理学研究科 平田研究室の栗原 かのこ様をはじめとする学生の皆さんには、実験に関してご指導いただきました。心より感謝致します。

〔引用文献〕

- 1) R. S. Houk, *et al.* : *Anal. Chem.*, **52**, 2283 (1980).
- 2) J. S. Becker, *et al.* : *Anal. Chim. Acta*, **835**, 1 (2014).
- 3) D. Pozebon, *et al.* : *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **32**, 88 (2017).
- 4) T. Hirata, *et al.* : *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **67**, 160 (2019).
- 5) B. Fernandez, *et al.* : *Anal. Chem.*, **80**, 6981 (2008).
- 6) T. D. Yokoyama, *et al.* : *Anal. Chem.*, **84**, 8892 (2011).
- 7) Y. Makino, *et al.* : *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **67**, 164 (2019).
- 8) S. Yamashita, *et al.* : *Bunseki Kagaku*, **68**, 1 (2019).
- 9) Y. Makino, *et al.* : *Metallomics (Springer, Japan)*, 93 (2017).
- 10) Y. Terao, *et al.* : *Bunseki Kagaku*, accepted.

Solid scale™ LA-ICP-MS用標準試料セット

Wako

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
197-19271	Solid scale™ LA-ICP-MS用標準試料セット	ICP分析用	1セット	照会

新刊

1 はじめに

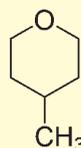
持続可能な開発目標 (SDGs) の達成に向けて、近年の化学産業には「グリーンケミストリー」の推進が強く求められている。「グリーンケミストリー」とは化学物質のライフサイクル全体において人体の健康や生態系、環境への負荷を低減しようとする概念や技術を指し、具体的な例としては廃棄物や排出二酸化炭素 (CO₂)、排水負荷を削減・低減できるような化学反応や化学プロセスの開発が挙げられる。

グリーンケミストリー推進を目的とした化学反応や化学プロセスの開発においては触媒や反応剤、製造設備などが重要な因子として挙げられるが、そのなかで最も重要な因子は溶媒である。溶媒は反応や抽出のために大量に使用されることから影響が大きく、グリーンケミストリー推進には安全性、リサイクル性、廃棄物削減、排水負荷低減といった観点から使用する溶媒を選択する必要がある。

当社はグリーンケミストリー推進に大きく貢献できる環境調和型エーテル系溶媒・4-メチルテトラヒドロピラン (MTHP、図1) を製造・販売しており、以下でMTHPの特徴や使用例について紹介する。

2 既存溶媒の課題

化学反応や抽出操作に用いられる溶媒には当然ながら広汎な溶解力が要求されており、一般的に用いられている溶媒としてはジクロロメタン等のハロゲン系溶媒、トルエン、テトラヒドロフラン (THF) などが挙げられる。しかしながら、ハロゲン系溶媒やトルエンは高い毒性が問題であり代替が強く望まれている。また環状エーテル系溶媒であるTHFは高い溶解力を持つため広く用いられているが、酸化に対する安定性が低く、爆発性のある過酸



4-Methyltetrahydropyran (MTHP)

図1. 4-メチルテトラヒドロピラン(MTHP)



図2. MTHP と水の二層分離

表1. MTHP と、他の汎用エーテル系溶媒の基礎物性

	B.P. [°C]	M.P. [°C]	Density (20°C)	Viscosity [cP]	F.P. [°C]	Solubility into Water [wt%]	Solubility into Solvent [wt%]	Azeotropic Point [°C] (H ₂ O ratio)	SP Value* [(cal/cm ³) ^{0.5}]
MTHP	105	-92	0.86	0.78	6.5	1.5	1.4	85 (19wt%)	9.0
THF	65	-109	0.89	0.55	-15	∞	∞	64 (6.0wt%)	9.5
2MTHF	80	-136	0.85	0.60	-11	14	4.4	71 (11wt%)	8.9
Diethyl ether	35	-116	0.70	0.24	-45	6.5	1.2	34 (1.3wt%)	7.6
1,4-Dioxane	101	12	1.04	1.30	11	∞	∞	88 (18wt%)	10.0

*Calculated according to "Hansen solubility parameters a user's handbook 2nd edition, CRC Press, ISBN: 0-8493-7248-8"

化物を生成するため、長期間の保管やリサイクルを前提とした使用に関し安全上の大きな問題がある。加えてTHFは水と自由に混和するため、反応溶媒として使用した場合、続く抽出工程では例えば酢酸エチルのような水と分離する抽出溶媒が別途必要となる。さらに抽出工程においては相当量のTHFが水層に溶出するため、リサイクル効率や排水負荷低減の観点からも大きな問題がある。

3 MTHP の特徴

このような既存の溶媒に存在する種々の問題はMTHPを使用することで解決可能である。MTHPと、一般的に用いられるエーテル系溶媒の基礎物性を表1に比較して示した。MTHPはTHFと同様の環状エーテル系溶媒でありながら疎水性が高いことが最大の特徴である。常温におけるMTHP

の水への溶解度は1.5重量%、水のMTHPへの溶解度は1.4重量%と小さいため、水と自由に混和するTHFと異なり、MTHPは水と混ざり合わず二層分離する (図2)。

この水と混ざり合わず二層分離するという特徴から、MTHPを溶媒として使用することで、後処理工程におけるCO₂排出量削減、エネルギー使用量削減、排水負荷低減、高回収率での溶媒リサイクルを達成することが可能となる。具体例として、図3で1tの溶媒を使用する化学反応の後処理工程について、溶媒としてTHFを用いた場合とMTHPを用いた場合とでエネルギー使用量とCO₂排出量の試算結果の比較を示している。

THF溶媒の場合では、抽出工程前にTHFの加熱による濃縮が必要となり、THF 1tあたりCO₂排出量換算で10.1kg分のエネルギーが必要となる。続いて、水と抽出溶媒である酢酸エチ

ルを加えて抽出を行うが、その後酢酸エチルの加熱による濃縮が再度必要となり、ここでも酢酸エチル1tあたりCO₂排出量換算で9.6kg分のエネルギーが必要となってしまいます。結果としてTHF溶媒の場合ではCO₂排出量換算で19.7kg分のエネルギーが必要となる。

一方でMTHP溶媒の場合では、MTHPは水と分離するため、抽出工程としては反応後の溶液に単純に水を加えるだけで済み、抽出工程前の加熱による濃縮は必要ない。抽出工程後のMTHPの加熱による濃縮のみ必要となるが、MTHP 1tあたりCO₂排出量換算で9.4kg分のエネルギーで済むため、結果としてCO₂排出量の半減化・省エネルギー化が可能となる。

加えて、CO₂排出量の削減と省エネルギー化のほかに、MTHPには排水負荷の低減や高回収率での溶媒リサイクルが達成可能という長所もある。THF溶媒の場合では、抽出工程において相当量のTHFが水層へ溶出するため、排水中の有機物成分が増加し排水負荷の上昇を引き起こすだけでなく、水層へ溶出したTHFは回収困難であり溶媒リサイクルの観点でも問題である。一方でMTHP溶媒の場合では、疎水性の高さから水層への溶出が少ないため、排水負荷の低減や高回収率でのリサイクルが可能となる。

MTHPやTHFに類似した環状エーテル系溶媒としては2-メチルテトラヒドロフラン (2MTHF) が知られており、2MTHFも水と分離するため回収再利用が可能ではある。しかしながら2MTHFは常温における水への溶解度が14重量%と非常に大きいため回収率は小さいものとなり、MTHPに優位性がある (表1参照)。

このようにMTHPはグリーンケミストリー推進に大きく貢献できる溶媒であり、加えて種々の条件における安定性も高いことから様々な化学反応やプロセスに適用可能である。MTHP

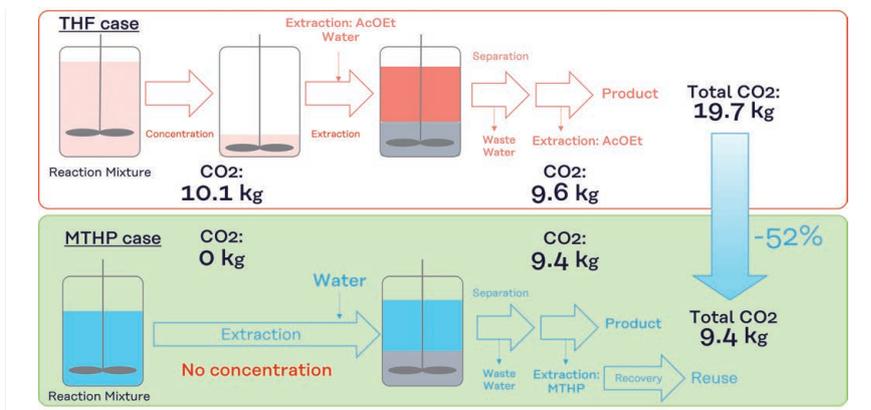


図3. 後処理工程におけるエネルギー使用量とCO₂排出量の試算

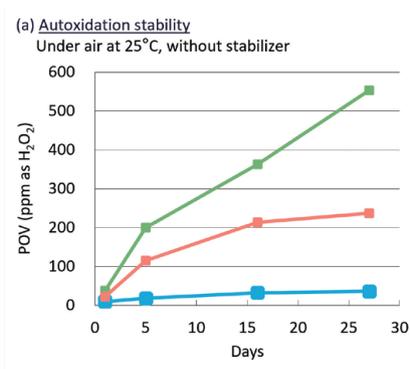


図4. 酸化安定性

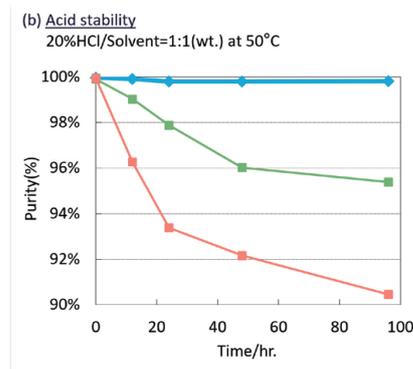


図5. 酸に対する安定性

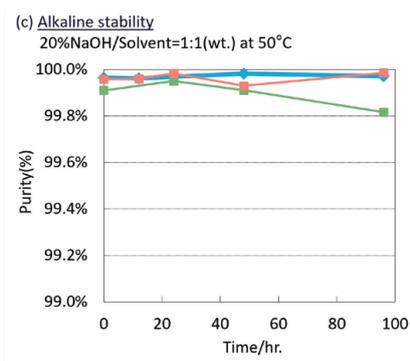


図6. 塩基に対する安定性

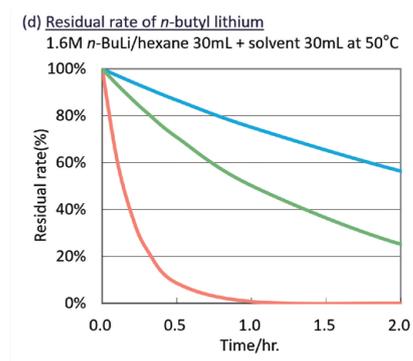


図7. n-BuLiの安定性

とTHF、2MTHFの各種安定性を比較したデータを図4-7に示す。THFや2MTHFは酸化安定性が低いため、リサイクル使用を行った場合に爆発性の過酸化物が蓄積する恐れがある。一方でMTHPは酸化に対し安定であるため過酸化物が生成しにくくリサイクル性に優れる (図4)。加えてMTHPは酸性条件 (図5) や塩基性条件 (図6)



安定性の凡例

に対しても安定であり、種々の反応や後処理工程に適用可能である。さらに特筆すべき点としてはn-ブチルリチウム (n-BuLi) の安定性である (図7)。

THF溶媒中で*n*-BuLiは不安定であることが一般に知られているがMTHP溶媒中では比較的安定であり、MTHPは*n*-BuLiを使用するような種々の有機金属反応にも適用可能である。

4 MTHPの適用例

MTHPは前述のように安定性に優れるだけでなく、様々な化学反応に溶媒として幅広く用いることができ、以降でその適用例を紹介する。

4-1. グリニャール試薬調製

図8は1-クロロヘキサンを原料としたグリニャール試薬の調製と、調製したグリニャール試薬とベンズアルデヒドとの反応結果を示す。THFは様々なグリニャール試薬の調製において溶媒として広く用いられているが、その沸点は66℃と低いため、常圧では反応温度を66℃以上に上げることができない。図8に示すようにTHFを溶媒とした場合には反応温度上限が66℃と低すぎるためクロロヘキサンからグリニャール試薬調製が進行しなかった。一方でMTHPは沸点が105℃と高いため、常圧下でもさらなる反応の高温化が可能である。MTHP溶媒でのクロロヘキサンからのグリニャール試薬調製は反応温度を90℃に上げることで良好な収率で進行し、続くベンズアルデヒドとの反応でも目的物が収率良く得られた。

4-2. 酸化反応

前述のように、MTHPは酸化に対する安定性が高いため酸化反応の溶媒としても使用可能であり、図9に示すようにアルコールの酸化反応により対応するカルボン酸が収率良く得られた。ジクロロメタン等のハロゲン系溶媒が酸化反応には用いられることが多いが、ハロゲン系溶媒は強い毒性を有することからMTHPが有力な代替候補となる。

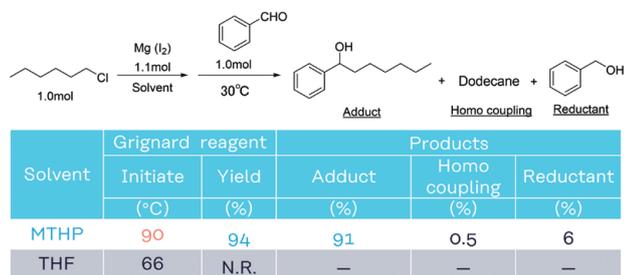


図8. グリニャール反応

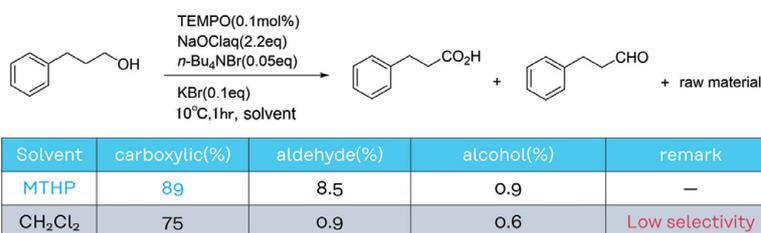


図9. 酸化反応

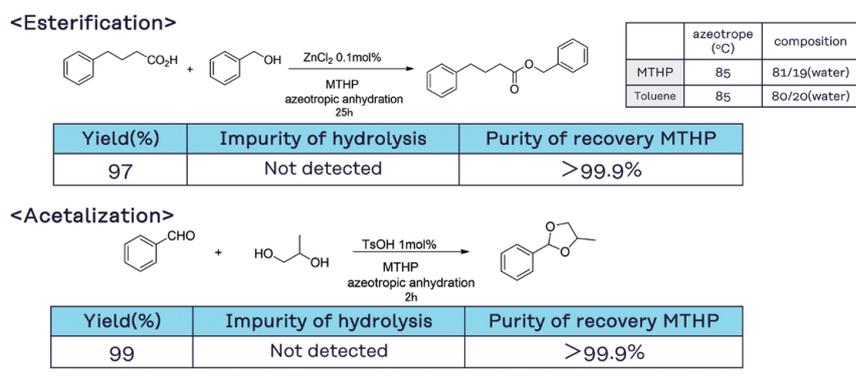


図10. 共沸脱水反応（エステル化・アセタール化）

4-3. 共沸脱水反応

前述のようにMTHPは酸に対する高い安定性を有することから、図10に示すようにMTHPはエステル化やアセタール化のような、酸共存下で実施する共沸脱水反応にも適用可能である。このような共沸脱水反応にはトルエンが一般的に用いられるが、トルエンではその強い毒性が問題であり代替が強く望まれている。MTHPは水との共沸温度が85℃、水との共沸組成がMTHP 81重量%：水19重量%といずれもトルエンと同等であり有力な代替候補となる。

4-4. リチオ化、ホウ素化、鈴木-宮浦カップリング反応

また、MTHPは*n*-BuLiを用いるリチオ化反応や、遷移金属錯体触媒を用いるクロスカップリング反応にも好適に使用できる。

図11に4-プロモトルエンの*n*-BuLiによるリチオ化と、続くホウ素化の結果を示す。-78℃の極低温条件ではMTHP、THFいずれも良好な収率で反応が進行するが、-78℃という極低温条件はラボスケールでは容易であっても工業スケールでは実施困難な場合が多い。そこで極低温条件の回避を目的として

-20℃条件で反応を行ったところ、THFでは収率が大きく低下した一方でMTHPでは良好な収率が維持されており、MTHPは工業的なリチオ化において有用であることが示された。

続いて、図11の反応で得られた4-メチルフェニルボロン酸とプロモベンゼンとの鈴木-宮浦カップリング反応の結果を図12に示す。THFや2MTHF溶媒の場合では、水との共沸温度が低く反応温度を上げられないために反応が長期化し、収率が低下した。一方でMTHPでは水との共沸温度が高く高温での反応が可能のため、短時間で良好な収率で目的物が得られた。一般に用いられるトルエンと同等の成績であり、代替溶媒として有用である。

最後に、MTHP溶媒を用いたこれらリチオ化、ホウ素化、鈴木-宮浦カップリングのワンポット反応化の事例を紹介する(図13)。従来のプロセスでは一段目のリチオ化・ホウ素化と二段目の鈴木-宮浦カップリングの間に分液抽出と溶媒交換が必要であり煩雑なプロセスとなる。一方でMTHPを用いるとワンポット反応化が可能となり、分液抽出や溶媒交換のない簡便なプロセスで従来プロセスと同等の収率を達成することができた。このようなプロセスの簡便化はコスト削減のみならずエネルギー使用量やCO₂排出量削減にもつながるため、MTHPはグリーンケミストリーに適合した溶媒として有用である。

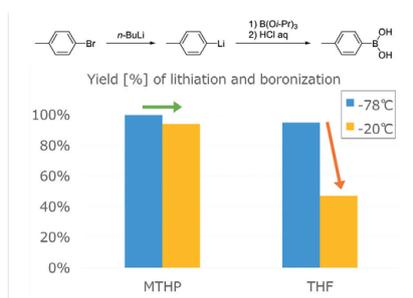


図 11. リチオ化、ホウ素化

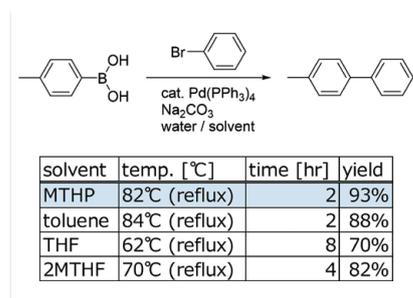


図 12. 鈴木-宮浦カップリング反応

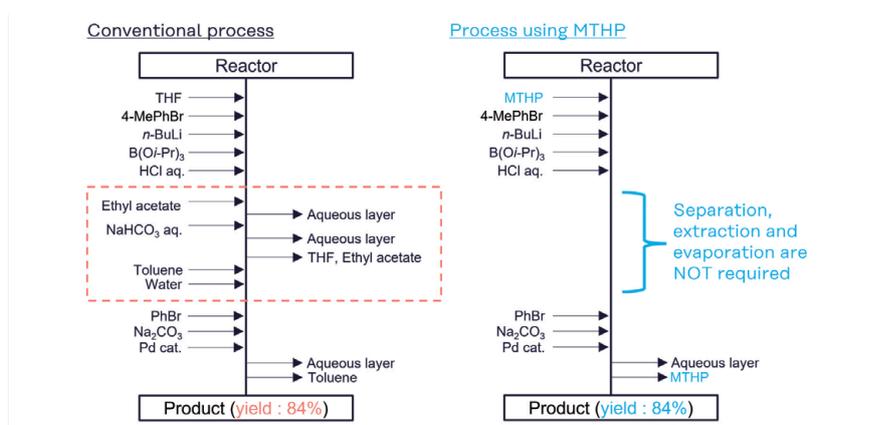


図 13. ワンポット化

減にもつながるため、MTHPはグリーンケミストリーに適合した溶媒として有用である。

5 おわりに

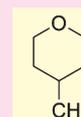
以上紹介したように、当社製品である環境調和型エーテル系溶媒「MTHP」

は幅広い化学反応に適用可能であり、そのうえ抽出操作をはじめとした後処理工程においてCO₂排出量削減、エネルギー使用量削減、排水負荷低減、高回収率での溶媒リサイクルが実現可能というグリーンケミストリーの推進に大きく貢献できる溶媒である。ぜひ一度、お試しいただきたい。

有機合成の反応溶媒に！

MTHP

本品は、水に不溶性高沸点環状エーテルです。酸・塩基に対して安定であり、THFに近い高い溶解性を有することから、鈴木-宮浦カップリング反応やグリニャール反応など様々な反応溶媒に使用できます。有機合成の反応溶媒にぜひご利用下さい。



C₆H₁₂O=100.16
CAS RN® 4717-96-8

Wako

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
134-18685	4-Methyltetrahydropyran, with Stabilizer 【MTHP】	和光特級	500mL	3,850
132-18681			3L	11,300

本品の詳細は当社HPをご覧ください。

試薬事業トップ→合成・材料→溶媒→合成用溶媒→高沸点環状エーテル溶媒

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00277.html>

はじめに

グリア細胞の一種であるミクログリアは、中枢神経系に存在する常在性マクロファージで、齧歯類の脳では細胞の5~12%の比率で存在しています。ミクログリアは、感染や損傷による炎症時に活性化されることから、中枢神経系の免疫担当細胞と言われています。しかし、最近の研究では、ミクログリアは正常条件下でも細胞質突起により周囲の微小環境を感知し中枢神経系の機能と恒常性を制御していることが明らかになっています¹⁾。具体的には、ミクログリアは神経新生やオリゴデンドロジェネシスなどの細胞新生及びシナプスの刈り込みに関与しています²⁾。一方、病原体、毒素、または機械的損傷、放射線被曝、自己免疫などにより生じる脳恒常性の異変を検出し、炎症性サイトカイン (IL-1やIL-6, TNF- α) の発現を増加させ、アポトーシスまたは病原体の食作用を促進させます³⁾。また、ミクログリアは抗炎症性サイトカイン (IL-10やTGF- β) の発現も増加させ、炎症症状を抑制することで免疫反応が過剰にならないようにしています。しかし、これら炎症性と抗炎症性のサイトカインのバランスが崩れるとサイトカインストームが生じ、炎症が急激に悪化します。末梢に存在するマクロファージは、主に培養系の研究により炎症機能を担うM1タイプ (CD16/32やCD86陽性) と抗炎症機能を有するM2タイプ (CD206やYm1陽性) に分類されていますが、この概念が動物生体レベルでの中枢神経系ミクログリアに当てはまるかについては疑問も呈されています⁴⁾。実際に、微生物内で保存されている分子モチーフである病原体関連分子パターン (PAMP) の投与による神経炎症時において、ミクログリアのM1/M2タンパク質発現はほとんど認められません。

ミクログリアは、炎症などによる活

性化に伴いサイトカイン産生やM1/M2タンパク質発現の増加だけでなく、顕著な形態変化を起こすことが報告されています。生理的に正常条件下では、ミクログリアは小さな細胞体と多数の長い細胞質突起を樹状に伸ばしたramified型の形態を示しますが、活性化すると細胞質突起が退縮し細胞体が肥大化したamoeboid型の形態に変化します⁵⁾。ミクログリアのamoeboid型への形態変化は、脳卒中、脳損傷、アルツハイマー病などの重度の病的条件下で引き起こされることが知られています¹⁾。さらに、グラム陰性菌由来のエンドトキシンであるリポ多糖類 (LPS) の末梢投与も、ramified型からamoeboid型への形態変化を誘導します⁵⁾。LPSは、神経炎症の実験動物モデルで最も一般的に使用されている病原体関連分子パターンで、自然免疫系の認識受容体であるToll様受容体4 (TLR4) によって特異的に認識され、遺伝子発現に影響を与えます。よって、神経炎症によるミクログリアの形態変化は、遺伝子レベルの発現変化と連動して起きる特徴と考えられます。

TLR4 リガンド LPS の神経炎症に伴うミクログリア増殖

成体の齧歯類及びヒト脳のミクログリアは、比較的長寿命の細胞であり、その密度は生理的に正常状態では安定しています⁶⁾。ミクログリアの自己複製は、生涯で数回程度生じ、増殖とアポトーシスの空間的及び時間的調整によって維持されています⁶⁾。一方、ミクログリア集団は、脳卒中、脳損傷、アルツハイマー病、多発性硬化症、プリオン病などの重度の脳疾病条件下でミクログリア増殖と骨髄由来のマクロファージの浸潤によって増加することが報告されています⁷⁾。しかし、高用量 (1 mg/kg) LPSを3連投してもマウスの大脳皮質でミクログリア増殖が変化しないことから、ミクログリア増

殖は、神経細胞死を伴う重度の神経変性疾患に特異的に生じると考えられてきました。しかし、筆者らはTLR4リガンドであるLPSにより生じる神経炎症において、多くの脳部位でミクログリア密度が一過的に増加することを証明しました^{8,9)}。低用量 (100 μ g/kg) LPSの単回末梢投与は、マウスにおいて発熱を誘起する軽度の神経炎症刺激ですが、視床下部、延髄などの広い脳領域でミクログリア増殖を引き起こします。ミクログリア増殖は、特に脳室周囲器官とその周辺脳部位で顕著に観察されました⁸⁾。脳室周囲器官とは、脳幹にある終板脈管器官、脳弓下器官、正中隆起、最後野などの血液脳関門を欠く脳領域の総称です。これらの脳部位は、血液由来の炎症性サイトカイン及び病原体関連分子パターンを介して脳に炎症情報を伝達するための受け渡し経路の中継点と考えられています^{9,10)}。さらに、高用量 (1 mg/kg) のLPS投与は、大脳、海馬などを除くほぼすべての脳部位で、ミクログリア増殖を誘発しました⁸⁾。ミクログリア増殖は、LPS投与後24~72時間の間に生じ、ミクログリア密度が増加しますが、投与後3週間以内に正常密度に戻ることであり、一過性の増加であることが分かりました。ミクログリアの増殖は、様々なLPSセロタイプ、Toll様受容体2 (TLR2) リガンドzymosanや炎症メディエーターであるプロスタグランジンE2 (PGE2) によっても生じました¹¹⁾。よって、ミクログリア増殖は感染に伴う神経炎症下で普遍的に生じるものであり、ミクログリア密度は容易に変化することが明らかになりました。

Beneficial or harmful

高用量 (5 mg/kg) LPS投与は、マウスの体重、摂食量、行動量などに顕著な低下を起し敗血症状態を生じますが、ミクログリア増殖を増殖阻害剤

により特異的に抑制すると、このような敗血症のsickness responseを悪化させることが分かりました¹¹⁾。このことは、ミクログリア増殖による密度増加は感染による神経炎症の急性期ダメージを緩和していることを示しています。コロナー刺激因子1受容体(CSF1R)阻害薬は、ミクログリア増殖を顕著に抑制するだけでなく、99%以上のミクログリアを除去することが可能です¹²⁾。CSF1R阻害薬によるミクログリアの除去は、脳卒中や脊髄損傷モデルマウスにおいて、急性期の神経細胞死を増加させることが報告されています^{13, 14)}。よって、急性期の炎症におけるミクログリアの活性化や密度増加は、神経炎症によるダメージを抑制し、神経機能を保護するbeneficialな機能を有すると考えられます。慢性的ストレスや自然免疫系のTLR2/TLR4を介して生じる炎症性サイトカインの発現誘導とミクログリア活性化は、神経細胞の応答性減弱とうつ様行動を誘導することが報告されています^{15, 16)}。以上のように、ミクログリア密度は、正常状態では一定ですが、感染による炎症によっても増加することが明らかになりました。ミクログリアは、感染急性期にはbeneficialに働きますが、逆に慢性期にはharmfulに働き精神疾患発症と関連している可能性があり、今後の解明が期待されます。

ミクログリアは脳の神経炎症における主役か？

Bruce Beutlerは、1998年にTLR4がLPSを認識する受容体であることを発見し、2011年ノーベル賞を受賞しました。活性化されたTLR4は、細胞内シグナル伝達経路を介して、転写因子であるNF- κ BやIRFを活性化し、様々なサイトカイン発現を誘導し炎症を促進します。これら一連の研究は、自然免疫という新しい概念を創出し、炎症発

症のメカニズム解明に大きな貢献をしました。

TLR2やTLR4は末梢マクロファージや樹状細胞に発現していることより、脳においても、マクロファージ系のミクログリアに発現していると思われています。しかし、生理的に正常な条件下のマウス脳では、TLR2やTLR4のmRNA発現は、他の脳部位に比べ脳室周囲器官において顕著に高いことが報告されています⁹⁾。さらに、TLR2が脳室周囲器官のミクログリアに顕著に発現しているのに対して¹⁷⁾、TLR4はアストロサイトと上衣細胞に存在していることが、免疫組織化学により解明されています¹⁸⁾。LPSの末梢投与は、脳室周囲器官のアストロサイトと上衣細胞及び脳全域の血管内皮細胞において、TLR4の下流にあるNF- κ Bシグナルを活性化します¹⁸⁾。一方、グラム陽性菌由来のリポタンパク質断片であるPam3CSK4や酵母由来のzymosanなどのTLR2リガンドの末梢投与は、脳室周囲器官のミクログリアにNF- κ Bシグナルを誘起します^{18, 19)}。末梢の炎症情報がサイトカインを介して中枢神経系を活性化しているならば、同じ細胞タイプが活性化されるように思われますが、TLR2とTLR4のリガンドにより異なるタイプの細胞が活性化されることは興味深い事実です⁹⁾。また、TLR2とTLR4の発現細胞とNF- κ Bシグナル活性化細胞のタイプが同じであることは、脳のTLR2とTLR4がリガンドを直接受容する可能性も示唆されます。TLR2あるいはTLR4リガンドを脳室内投与することによってもNF- κ Bシグナル活性化が、それぞれミクログリアとアストロサイトに生じます。TLR4リガンドLPS及びTLR2リガンドzymosanは、脳室周囲器官の有窓性毛細血管を介して、実質に到達することが示されています^{19, 20)}。病原体関連分子パターンは、比較的高分子量の分子が多いのですが、病原体が有する無数の分子の中から、ある特定の分

子のみがTLR2やTLR4により認識されています。筆者は、病原体関連分子パターンは、量的に多いだけでなく、トランスポーターなどにより生体の深部まで運ばれやすい性質であることがTLRsリガンドの条件として必須ではないかと推測しています。

clodronate liposomeの脳室内投与によるミクログリア除去は、低用量(100 μ g/kg)のLPS投与により誘導される発熱を増強することが報告されています²¹⁾。また、CSF1R阻害薬によりミクログリアを除去しても、比較的高用量(0.5 mg/kg)のLPS投与によるsickness responseには影響がないことも報告されています²²⁾。一方、clodronate liposomeによるミクログリア除去は、TLR2リガンドzymosanによる体温低下を抑制します¹⁹⁾。以上の結果は、作用する病原体関連分子パターンの種類により、ミクログリアの機能が違うことを示唆しています。

ごく最近、Osterhoutらは、LPSによる脳内の神経炎症経路について新しい仮説を提唱しました²³⁾。彼らの仮説によると、まず脳への炎症情報は血管内皮細胞や脳室に面する上衣細胞、脳室周囲器官で情報が受容され、サイトカイン、ケモカインやPGE2などのメディエーターを介してアストロサイトやミクログリアを活性化する。その後、これらの情報が神経系に伝達・統合され、体温変化やsickness responseなどが引き起こされると考えられているようです。以上より、ミクログリアは、脳血管系、上衣細胞、脳室周囲器官、アストロサイトのネットワークの一環として機能することで神経炎症を引き起こしていることが分かります。しかし、炎症時におけるミクログリアの機能は、病原体関連分子パターンの種類、あるいは急性期と慢性期などの時期により異なり多様な側面があることも明らかになりつつあります。

最後に

人類は、ウイルスや細菌感染による炎症発症機構がほぼ解明されたかのように思っていたと思います。しかし、コロナウイルスによるパンデミックは、この分野における人類の理解が不十分であることを痛感させました。また、感染後に脳における後遺症なども報告されており、感染による脳の神経炎症経路については、未だに解明すべき事象が多いことがわかりました。よって、神経炎症の基礎的メカニズム、特にミクログリアのダイナミクス

についてさらなる解明が必要であると思われる。

【参考文献】

- 1) Hanisch, U.K., and Kettenmann, H. : *Nat. Neurosci.*, **10**, 1387 (2007).
- 2) Badimon, A. *et al.* : *Nature*, **586**, 417 (2020).
- 3) Shemer, A. *et al.* : *Trends, Immunol.*, **36**, 614 (2005).
- 4) Randschoff, R.M. : *Nat. Neurosci.*, **19**, 987 (2016).
- 5) Stratoulas, V. *et al.* : *EMBO J.*, **38**, e101997 (2019).
- 6) Aske, K. *et al.* : *Cell Rep.*, **18**, 391 (2017).
- 7) Gomez-Nicola, D. *et al.* : *Neuroscientist*, **21**, 169 (2015).
- 8) Furube, E. *et al.* : *Sci. Rep.*, **8**, 2203 (2018).
- 9) Miyata, S. : *Front. Neurosci.*, **16**, 991779 (2022).
- 10) Miyata, S. : *Front. Neurosci.*, **9**, 390 (2015).
- 11) Torii, K. *et al.* : *J. Neuroimmunol.*, **65**, 577832 (2022).
- 12) Elmore, M. R. *et al.* : *Neuron*, **82**, 380 (2014).
- 13) Szalay, G. *et al.* : *Nat. Commun.*, **7**, 11499 (2016).
- 14) Bellver-Landete, V. *et al.* : *Nat. Commun.*, **10**, 518 (2018).
- 15) Kato, T.A. *et al.* : *Curr. Med. Chem.*, **20**, 331 (2013).
- 16) Nie, Z. *et al.* : *Neuron*, **99**, 464 (2018).
- 17) Murayama, S. *et al.* : *J. Neuroimmunol.*, **334**, 576973 (2019).
- 18) Muneoka, S. *et al.* : *J. Neuroimmunol.*, **331**, 58 (2019).
- 19) Takagi, S. *et al.* : *J. Neuroimmunol.*, **331**, 74 (2019).
- 20) Alejandra, V-C. *et al.* : *Sci. Rep.*, **7**, 13113 (2017).
- 21) Serrats, J. *et al.* : *Neuron*, **65**, 94 (2010).
- 22) Vichaya *et al.* : *J. Neuroimmunol.*, **17**, 172 (2020).
- 23) Osterhout, J.A. *et al.* : *Nature*, **606**, 937 (2022).

ミクログリア研究に！

抗Iba1, ウサギモノクローナル抗体(6A4), 組換え体

Wako

Iba1は神経系のミクログリアに発現している約17kDaのタンパク質で、ミクログリアマーカーとして使用されます。この度、新たにモノクローナル抗体を製品ラインアップに追加しました。

抗Iba1, ウサギモノクローナル抗体 (6A4), 組換え体はロット間差が非常に少ない抗体です。

ミクログリア研究にご活用下さい。

製品概要

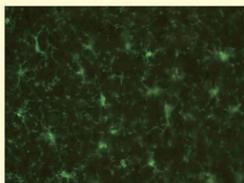
バッファー組成	PBS (50% グリセロール), 0.05% アジ化ナトリウム
抗体濃度	ラベルに記載
抗原	合成ペプチド (Iba1 の C 末端配列相同)
標識	未標識
交差性	マウス, ラット (他動物種については検討未実施)
アプリケーション	免疫組織染色 (凍結切片) 1 : 200-10,000 [※最適濃度はアプリケーションごとにご検討下さい。]

アプリケーションデータ

免疫組織染色

■ マウス脳

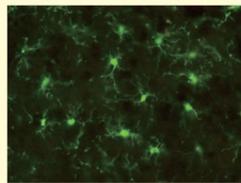
本品 (コード No. 018-28523)



(サンプル) マウス脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) 1 : 200
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗ウサギ IgG 抗体

■ ラット脳

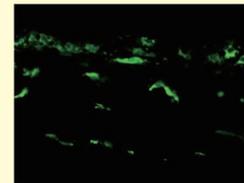
本品 (コード No. 018-28523)



(サンプル) ラット脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) 1 : 200
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗ウサギ IgG 抗体

■ マウス網膜

本品 (コード No. 018-28523)



(サンプル) N-Methyl-N-nitrosourea にてミクログリアの集積と活性化を誘導したマウス網膜 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) 1 : 2,000
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗ウサギ IgG 抗体

マウス脳・網膜及びラット脳の凍結切片が染色可能であることが確認できました。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
012-28521	Anti Iba1, Rabbit Monoclonal Antibody (6A4),	免疫化学用	20 μ L	20,000
018-28523	recombinant		100 μ L	60,000

☐…2~10℃保存 ☐…-20℃保存 ☐…-80℃保存 ☐…-150℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2023年10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 LC-MSの基礎とLCMS-2050の特長

株式会社島津製作所 分析計測事業部 小寺澤 功明

—シリーズ開始にあたって—

LC-MSは、食品・環境・バイオ・生体など幅広い分野で、高精度な分析機器として急速に普及が進んでいます。また、昨今のヘリウム不足に伴う代替法への切り替えや、検体の多様化・極微量化による装置高精度化の流れに伴い、LC-MSの更なる活躍が期待されています。試薬においても、微量不純物を低減させるなどしたLC-MS分析に適した溶媒が開発されています。

本シリーズでは、LC-MSの基礎から、様々な分野におけるLC-MSの活用例を第一線の研究者の方々にご紹介いただきます。本連載が読者の皆様のご研究の一助になりましたら幸いです。

◆ 1. はじめに

質量分析計(Mass Spectrometer, MS)とは、化合物をイオン化させ、その質量と電荷の比 (m/z) を測定する装置です。検出できる質量と電荷の比を走査することで質量情報 (マススペクトル) を得ることもできます。液体クロマトグラフィー(Liquid Chromatography, LC) とMSを直列に接続すると、LCとMSの長所を組み合わせた効果的な分析が可能であり、この構成のために設計された質量分析計をLC-MSと呼びます。

LC-MSを用いた分析では、LCによる化合物の溶出に合わせて、マススペクトルを数百ミリ秒程度の間隔ごとに取得します。取得されたデータの表示方法として、測定された全イオンの強度の合算値をLCの保持時間に対してプロットしたTICクロマトグラム (Total Ion Current Chromatogram, TIC) と、特定の m/z のイオンの強度をプロットしたマスキロマトグラム (Mass Chromatogram, MC) があります。Fig.1にMS検出によるクロマトグラム、MSスペクトルの例を示します。

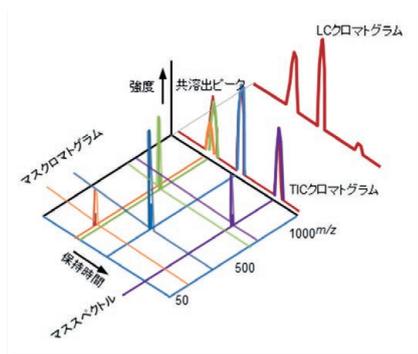


Fig.1 LC-MSで得られるデータのイメージ図

LC単独では、保持時間の近い成分はピークが重なった形で検出されてしまい、正確な分析の妨げになりますが、LC-MSでは分子量に応じたマスキロマトグラムを描画することにより、別々のピークとして分離検出されます。これは食品や生体試料など複雑性の高い試料に含まれる特定の化合物を分析したいときに特に役立ちます。カラムによる分離が不完全でも分析を成立させやすいため、分析メソッド開発の省力化や、高速化も可能です。

◆ 2. 質量分析計の原理

質量分析計の原理概要

質量分析計は化合物をイオン化し、特殊な電場の中を通過させることにより、イオンの m/z に応じて分離検出する装置です。装置は主にイオン化部と質量分離部、イオン検出部の3つで構成されます。

イオン化部

LC-MSでは、最初にカラムからの溶出液を噴霧し化合物をイオン化させる必要があります。このイオン化には、主にエレクトロスプレーイオン化法

(Electrospray Ionization, ESI) および大気圧化学イオン化法 (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI) と呼ばれる2種類のイオン化法が使われています。これらは、イオン化に伴うエネルギーの授受が少ないのが特長で、分子を壊さずにイオン化させられる「ソフトイオン化法」に分類されます。観測されるイオンから化合物の分子量情報が容易に得られます。

ESIでは、カラムからの溶出液に高電圧を印加し帯電液滴を生成します。帯電により生じる静電的な反発力が、より小さな液滴への分裂、さらには脱溶媒を加速させ、最終的に化合物に電荷が付与したイオンが気相に放出されます。ネブライザーガスと呼ばれるガスを噴霧すると、LCの送液流量が高い場合においても効率的に脱溶媒・イオン化を行うことができます。

APCIでは、カラムからの溶出液をネブライザーガスおよび高温により気化させてから、高電圧が印加されたニードルから生じるコロナ放電によりイオンを生成します。分析対象の化合物が直接イオン化しにくい場合においても、イオン化した溶媒との相互作用

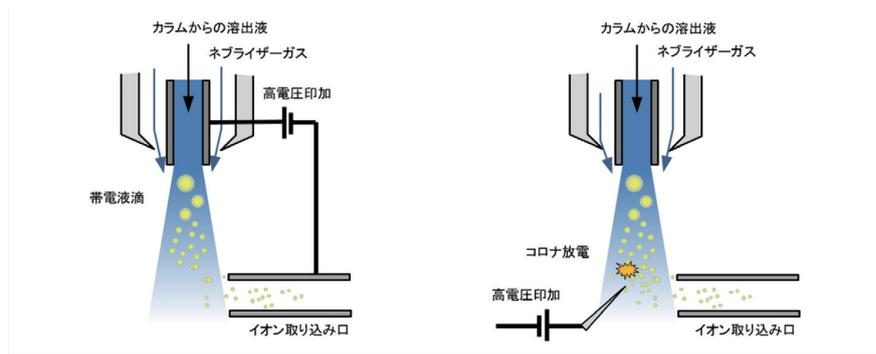


Fig.2 イオン化法の模式図 (左: ESI、右: APCI)

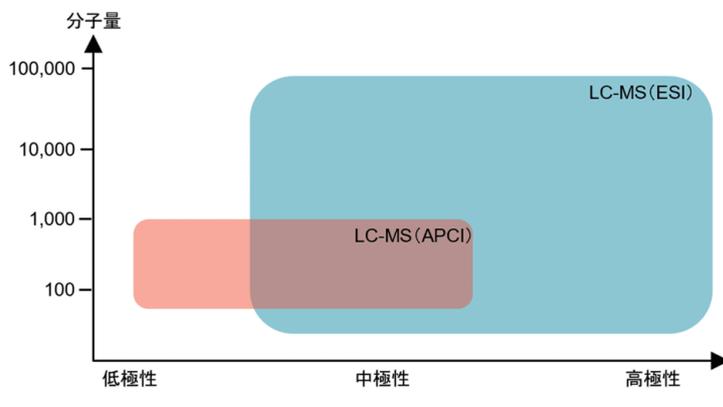


Fig.3 イオン化法の傾向

を通じて化学的にイオン化させることができます。

これらイオン化法の模式図をFig.2に示しました。

このイオン化部については、化合物をイオン化させられるかどうかに関係するため、対象となる化合物に合わせて選択する必要があります。ESIとAPCIのイオン化可能な化合物の傾向についてFig.3に示しました。

質量分離部・イオン検出部

m/z が異なるイオンは、電場・磁場の中での振る舞いが少しずつ異なります。質量分離部では、この振る舞いの違いを利用してイオンの分離を行います。イオン分離の技術には様々ありますが、最も汎用的なものの1つが、四重極型です。四重極は4本のロッドで構成されており、向かい合った2本のロッドに同一の高周波電圧を与えています。イオンはこの四重極の間の空間に導入され、ロッドに与えられた電場によって振動しながら通過します。この時、電圧に応じて安定して通過するイオンの質量電荷比が変化します。つまり、電圧を調整することで、通過させるイオンを選択することができます (Fig.4)。

ロッドに印加する電圧を特定の値に固定すると、対応した m/z のイオンのみを高感度に検出できます (Selected

Ion Monitoring, SIMモード)。電圧を走査すると、幅広い m/z に対してスキャンする動作となり、これによりマススペクトルを得ることが可能です (スキャンモード)。

この正確な電圧制御によって四重極ロッドの間を通過できたイオンのみがイオン検出部にて検出されることとなります。

質量分離部には、四重極型以外にも飛行時間型、イオントラップ型など様々な質量分離部が存在します。この質量分離部の型によって、得られる質量の精度や分解能などが変わるため、分析の目的に合わせて選択する必要があります。

タンデム質量分析 (MS/MS)

タンデム質量分析とは、 m/z で分離されたイオンを続けて別の質量分離部で分離する手法のことを指します。シングル質量分析では、バックグラウンドイオンが存在した場合などに分析対象成分の検出や定量が難しくなる場合があります。タンデム質量分析を用いるとさらに選択的に分離・検出することが可能となるため、より高感度に測定することが可能となります。

一例としてトリプル四重極型質量分析計があります。トリプル四重極型質量分析計では、1つ目の四重極でイオンを分離した後、2つの四重極内でイ

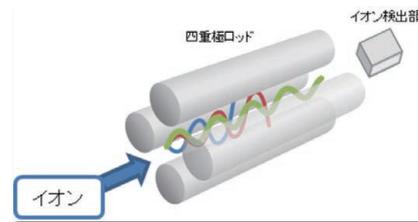


Fig.4 四重極型でのイオン分離のイメージ図

オンをコリジョンガスと衝突させるなどして分解し、その分解されたイオンを3つ目の四重極で再度分離します。本手法を用いることで、夾雑成分の影響を低減し高感度に分析することが可能となります。

また、その他の組み合わせとして四重極型と飛行時間型を組み合わせた質量分析計などもあり、それぞれの質量分離部の特性を生かした分析が可能となります。

LC-MSの留意点

イオン化部にて移動相を噴霧し揮発させることから、不揮発性の塩を含む移動相は使用できないという制約があります。カラムによる分離を行う際 pH調整が非常に重要なため、リン酸やクエン酸緩衝液などが良く用いられています。しかし、このような不揮発性塩は微細液滴の生成・脱溶媒の効率を著しく損なうため、使用できません。ギ酸、酢酸、ギ酸アンモニウム、酢酸アンモニウムなどの揮発性の塩を用いるのが一般的です。

また、移動相に使用する溶媒のグレードにも注意が必要です。移動相に使用する水や有機溶媒の純度が低いとノイズが大きくなります。水やギ酸、アセトニトリルやメタノールなどの試薬は、LC-MSグレード以上のものを使用することが推奨されます。

◆ 3. 新しい小型シングル四重極質量分析計LCMS-2050

LC検出器としての使いやすさ

LCMS-2050は、Nexera™シリーズと完全統合されたデザインであり操作

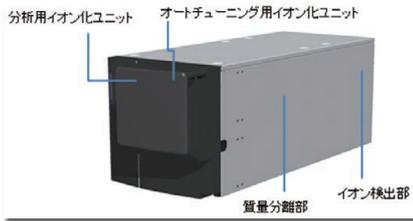
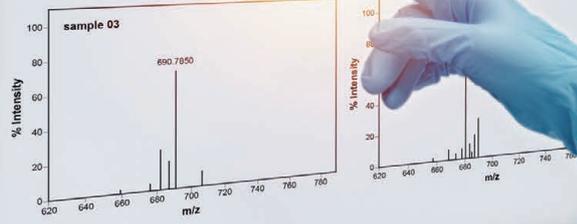


Fig.5 LCMS-2050の構成

性もLCユーザーにやさしく、LC検出器として容易に扱えることが可能な質量分析計です。他のLCユニットと同サイズで、システム内に組み込むことができます。LCMS-2050は真空起動後から6分で分析開始することができるため、LCのセットアップ中に分析準備を完了することができます。

また、LCと同じ制御用ソフトウェアLabSolutions™で操作・データ解析することが可能です。測定時間・質量範囲・サンプリングレートのみ設定すればLC/MS分析ができますので、測定時間・波長範囲・サンプリングレートを設定するPDA検出器と同じ感覚で使用できます。

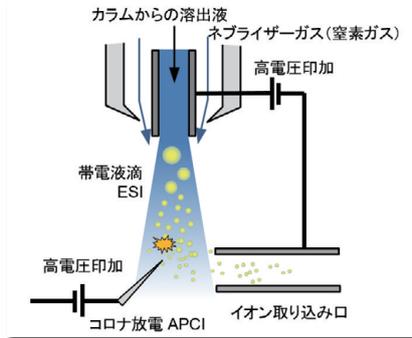


Fig.6 イオン化部「DUIS」の模式図

LCMS-2050は、前面にイオン化部を有し、内部に質量分離部、イオン検出部を有します (Fig.5)。イオン化部では、装置状態を維持するために感度調整、分解能調整、質量校正を自動で行うオートチューニング用のイオン化ユニットも配置されています。配管を交換することなく装置調整が可能であり、いつも最適な装置状態で使用することが可能です。

幅広いイオン化

LCMS-2050ではESIとAPCIの機能

を兼ね備えたイオン化部 (Dual Ion Source, DUIS) が採用されています。従来ESIとAPCIの使い分けが求められていたところを、島津の独自技術であるDUISにより、一度の分析で幅広い化合物を測定することが可能になりました。LCMS-2050のイオン化部の模式図を示します (Fig.6)。

ESIとDUISで測定した2つの化合物のマスキロマトグラムをFig.7に示します。シメトリンはESIで感度よく検出されますが、キントゼンは低極性化合物でESIでは検出できません。DUISで測定した場合、いずれの化合物も感度よく検出することができました。

優れた長期安定性・堅牢性 データ採取の高速性

クロマトグラムを正しく測定するためには1ピーク当たり十分なデータポイント数が必要で、通常10～20点が求められます。データポイント数が不足すると、ピーク本来の形状を再現で

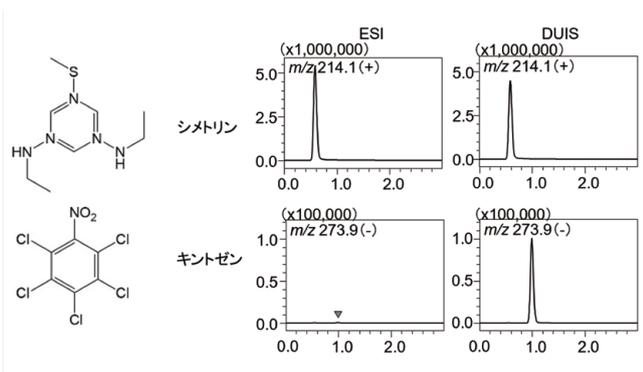


Fig.7 ESIとDUISの感度比較

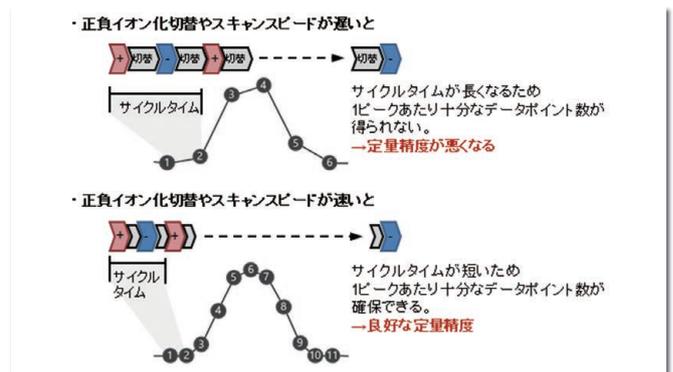


Fig.8 スキャンスピードの違いによる影響

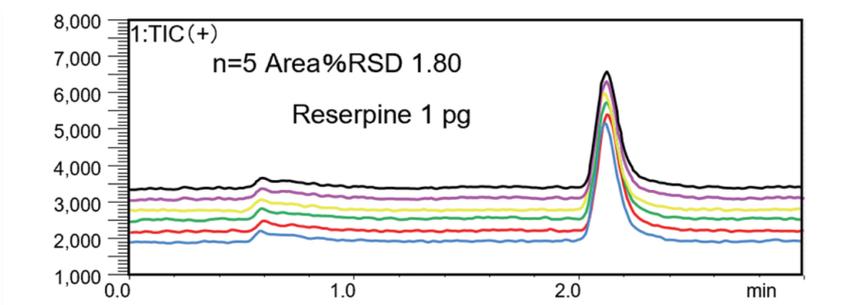


Fig.9 Reserpine 1 pg MSクロマトグラム

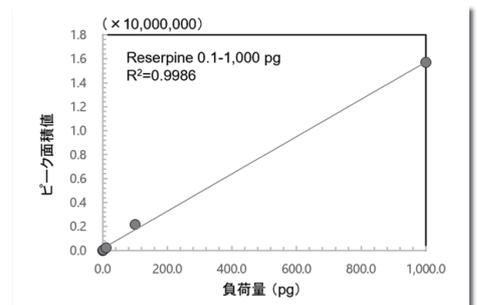


Fig.10 Reserpine 検量線 (0.1~1,000 pg)



きなくなるため、定量結果のばらつきにつながります。再現性の高い測定を行うためには、データ採取を高速化しサイクルタイムを短くする必要があります (Fig.8)。

LC-MSでのサイクルタイム短縮に最も寄与するのは、幅広い質量幅を短時間でスキャンする能力 (高速スキャン性能) です。正イオンおよび負イオンのどちらも測定する場合には、正と負のイオン化モードの切り替えを短時間で行うことも求められます。LCMS-2050ではUFscanning™およびUFswitching™技術の採用により、同型のLC-MSでは世界最高速となる15,000 u/secの高速スキャンおよび10 msecの正・負イオン化モード切り替え時間を実現しました。UFMS (Ultra Fast Mass Spectrometry) シリーズを通じて島津が培ってきた高電圧を高速正確に制御する技術が、小型LC-MSでも発揮されています。

高感度と優れたダイナミックレンジ

一般的に質量分析計は高感度測定が可能ですが、LCMS-2050は、小型ながらも期待を裏切らない感度性能を有しています。Reserpineを用いた感度試験では、1 pgの測定で良好な面積値再現性が得られました (Fig.9)。さらに、0.1-1,000 pg (4桁) もの幅広いダイナミックレンジでの定量分析が可能です (Fig.10)。

LC/MS測定において、装置の安定性、堅牢性は非常に重要です。ピーク強度や質量精度が長時間安定していることが、ユーザビリティおよび生産性向上に直結します。

LCMS-2050の堅牢性を評価するための加速試験として、3,000 ng/μLの溶液を1μLずつ、連続で10,000回注入しました。これは、1,000 ng/μLの試料を日常的に分析する使用環境における15ヶ月稼働分に相当します (100分析/日、20日/月稼働)。加速試験中、一定注入ごとに10 ng/μLのプロプラ

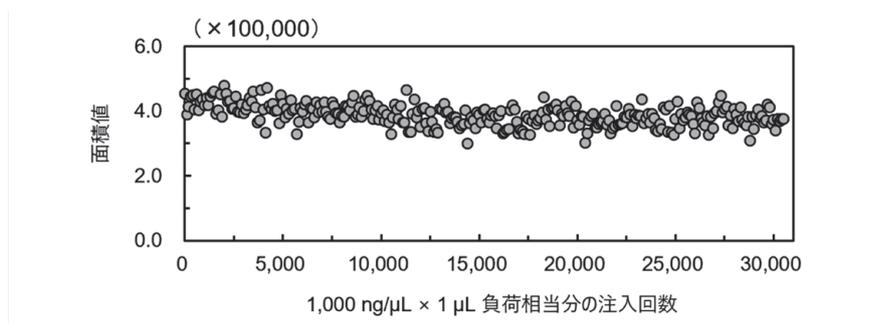


Fig.11 負荷回数ごとの10 ng/μLプロプラノロール溶液のピーク面積値

ノロールを測定することで、装置汚染に対するピーク面積値の安定性を評価しました。

その結果、スキャンモードで測定した時のピーク面積値%RSDが8.5%と良好な結果が得られました。

LCMS-2050は堅牢な分析を可能とするために3つの汚れ防止対策を実施しています。

イオンの取り込み口を大きくしながら装置内部の真空を維持できるように最適化された真空排気システム (特許技術) により、詰まりにくい設計となっています。

Heated ESIガスにより汚れ成分を揮発させ除去します。さらに、イオン取り込み口の上側に向けて吹き付けることで、イオン化は促進しながら汚れ成分はMS真空内部に入らない構造となっています (特許申請中)。

高濃度サンプルや夾雑成分が多いサンプルを分析した場合などに大量のイオンが質量分析部に導入されると、精密な部品である四重極ロッドに汚れが発生することがあります。このような状態ではイオンが四重極ロッドに停滞し感度低下を引き起こします。LCMS-2050では、四重極ロッドに印加する電圧をコントロールすることで滞留したイオンを取り除きます。これにより、汚れに強い安定した分析が可能となっています。

また、万一イオン取り込み口が詰まった場合でも、真空を停止することなくイオン取り込み部品の交換が可能

なため、装置のダウンタイムを最小限にすることが可能です。

◆4. 最後に

LC-MSは、LCに質量情報を加えることで更なる分離・精度の高い同定・高感度検出を可能とする非常に重要で価値のあるツールです。そのLC-MSの中でもLCMS-2050は、LC検出器としての使いやすさとMSの優れた能力をかけ合わせて「使いやすさ」「基本性能の高さ」「コンパクトさ」の全てを兼ね備えたシングル四重極質量分析計です。LC-MSを使用するハードルを下げつつMSとしての分析を可能にするため、様々なユーザーの方々にスムーズにお使いただけて、創薬の合成確認や不純物解析、食品中の機能性成分測定、化学材料の成分評価など広い用途・分野において活躍し、新たな技術や製品の創出に寄与することを期待します。

LCMS-2050に関するお問い合わせは、最寄の株式会社島津製作所の営業拠点にご相談ください。

第2回 フロー合成の基礎 ～要素技術と設計～

静岡大学グリーン科学技術研究所 間瀬 暢之

第1回目において、フロー合成の魅力 ～なぜフロー合成？～について解説した。遠い存在だったフロー合成を身近に感じてもらえただろうか？今回、実際にフロー合成を導入するために、フロー合成の基礎 ～要素技術と設計～について紹介する。

◆フロー合成を始めるために必要な準備

フロー合成に関する学術論文、書籍、特許、参考書など、学べる資料は数多くある。これらの中でも特におすすめの書籍は「有機合成のためのフロー化学（東京化学同人）」¹⁾である。本書にはフロー化学の基礎、触媒反応、光化学反応、電気化学反応、フロー精密合成、連続生産社会実装、実験手順などが載っており、フロー化学のトピックスが網羅的に説明されている。また、オープンアクセスの「How to approach flow chemistry」²⁾やレジェンド論文の「The Hitchhiker's Guide to Flow Chemistry parallel」³⁾も併せて、ぜひ、ご一読していただきたい。

フロー合成を実践するには、以下の学問分野の知識が必要とされる。有機化学（分子の設計や合成技術の理解）、分析化学（反応生成物や中間体の評価技術の理解）、物理化学（反応機構や

反応速度の理解）、プロセス化学・化学工学（フロー反応容器の設計と最適化）などである。また、統計学やデータサイエンスの知識も有用である。なぜならフロー合成では連続的なデータ収集が可能であり、これらのデータを分析することで、より効率的なフロー合成手法を開発できるからである⁴⁾。

次に、フロー合成を制御し、実践するには、装置の設計についての詳細な知識が求められる。これらはマイクロ流体力学や熱力学、物質輸送理論といった基本理論に基づいている。これらの理論の理解は、装置の効率的な使用と反応条件の最適化に寄与する。

最後に、化学反応の安全性についての知識が必要である。これには発熱量や圧力上昇を予測する技術が含まれる。これらの情報は、反応の安全な進行を確保し、過熱や過圧などの予期せぬ事態を避けるために重要である。

◆フロー合成で用いられる装置

フロー合成で使用される主な装置として、ポンプ、ミキサー、フロー反応容器、背圧弁などがある（図1左）。これらの装置は流量、温度、圧力の精密な制御を可能にし、所望の化学反応を効率的かつ精度高く実行できる。

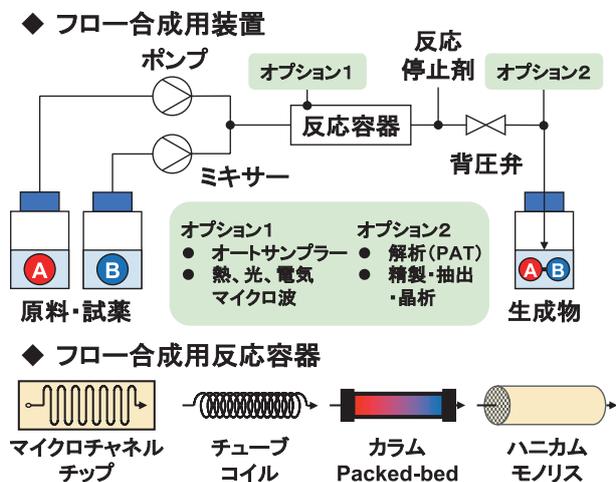
研究室で扱うことができるサイズの

フロー合成システムは、海外メーカーのVapourtec社、Syrris社、UNIQSIS社、Thales-Nano社、Corning社、国内メーカーのYMC社、EYELA社、中村超硬社、サイダ・FDS社、DFC社などから購入可能である。しかし、これらのシステムの導入にはコストが必要で、特に地方大学などの予算に制約のある研究者にとっては負担となり得る。そのため、初めてフロー合成に取り組む際は、シンプルな構成の装置で基本的な反応を試すことから始め、結果と経験を積み重ねていくことを推奨する。また、フロー合成システムを保有する研究者と共同研究を推進することも1つの方法である。これにより、フロー合成の専門知識を持つ研究者との協働を通じて、自身の研究を深めることができる。

本稿では、断りがない限り、研究室レベルから始められる手法に重点を置いて紹介する。したがって、大規模な連続合成（例えば年産数千トンを目指すなど）を計画する場合は、さらなる詳細な情報や指導が必要となるので、専門書を参照することを推奨する。

◆フロー合成用ポンプとミキサー

図1左にフロー合成用装置の基本構成を示す。初めてフロー合成に取り組



◆ 均一流



◆ 気泡流



◆ スラッグ流



◆ チャーン流



◆ 環状流



図1. フロー合成用装置の概要（左）と多相系のフローパターン（右）



む際や、高精度に実験をしたい場合、コストパフォーマンスが高いシリンジポンプの使用を推奨する。ただし、試薬量がシリンジ容量に依存するため、連続的な試液の送液には工夫が必要であり、例えば、複数のシリンジポンプを用いて連続化をする必要がある。連続送液する場合、耐薬品性を考慮するとHPLCポンプ（フロム社製など）が好ましい選択となる。また、取り扱いが容易なダイヤフラムポンプ（タクミナ社製など）もお勧めである。いずれの連続型ポンプを選択する場合でも、流路やプランジャヘッドの洗浄などのメンテナンスが必要になるため、機械いじりが得意な研究者にその役割を割り当てるのが無難である。

続いて、2液以上を反応させる際にはミキサーが必要である。T型、Y型、クロス型など、反応に適したタイプのミキサーを選択する⁵⁾。特に不均一系の反応では、混合効率が反応速度に大きく影響する。したがって、反応に最適な混合方法を特定するために、形状や内部流路の内径などが異なる複数のミキサーを準備し、適切に選択することが重要である。

◆フロー合成用反応容器の選択と活用

化学反応の種類は非常に多岐にわたるため、それに応じてフロー合成用の反応容器を適切に選択することが重要である⁶⁾。例えば、マイクロチャンネル（マックエンジニアリング社など）は、ディーン流れを主とした物質混合と、高い表面積対体積比による優れた熱移動に特長がある。さらに複数のマイクロチャンネル反応容器を連結すれば、大量の有用物質を生産できる。ただし、それぞれの反応容器が一貫したパフォーマンスを保つには、精密な制御と高度なエンジニアリングが必要である。また、マイクロ流路であるため、化合物が結晶化しやすい反応の場合には、目詰まりが問題となる。

一方、反応容器として直接チューブ

を使用する方法もあり、これは通常、コイルリアクターと呼ばれる。入手容易性が高く、コイル化によりディーン流れを利用した混合も期待できるため、初めてフロー合成に取り組む際には、この方式を採用することを勧める。

また、固体触媒を用いる不均一系反応では、Packed-bed反応容器として触媒を詰め込んだカラムを利用する。市販の触媒や自作の触媒を詰め込むことで、多種多様な反応に適応できる。触媒のろ過も不要であり、超高活性な固体触媒の開発により、フロー合成手法の社会実装が大きく進展する。

いずれの反応容器を選択する場合でも、背圧弁を使用して反応系を加圧し、気体の溶解度を高めたり、試薬や溶媒の沸点以上の反応を実施したりできる。バッチ反応で圧力を変更するには耐圧反応容器が必要となるが、フロー合成システムでは、任意の圧力で容易に実験することができる。なお、小型の背圧弁は、DFC社やフロム社から購入できる。

◆多相系フロー合成における流れ

均一反応の場合、バッチ系でもフロー系でも、各試薬が混ざり合って均一になれば均一流となり（図1右）、その後の攪拌効率の相対的重要性は低下する。一方で、気体、液体、固体が組み合わさる多相系反応では、界面での物質移動が鍵となり、ミキサーの選択と配置は反応効率に大きく影響を及ぼす。例えば、気液反応では、気体の流量によって気液二相流の状況が大きく変わる（図1右）。ここで考えられる流れのパターンには、気泡流（連続した液相中に小さな気泡が分散する流れ）、スラグ流（気液が交互に流れる流れ）、チャン流（気体スラグが伸長し、その界面が脈動する流れ）、環状流（管壁に液膜が、中心部に気相が存在する流れ）などがある⁷⁾。これらの流れを大きな反応容器内で制御する

ことは困難であるが、配管内での制御が可能なフロー手法は、多相系反応においても大きな利点となる。

さらに、気液固反応の場合、壁近傍や触媒充填の不均一な空間に由来する偏流（チャネリング）を制御することが必要である。この問題は、ハニカム構造のモノリス触媒（図1左）を活用することで回避できる可能性があり、キャタラー社などが研究開発に取り組んでいる。ミキサーと触媒機能を併せ持つことで、装置のコンパクト化にも貢献する技術となる。

◆フロー合成システムのオプション

フロー合成を行う最低限の設備としては、ポンプ、ミキサー、反応容器、背圧弁が挙げられる。しかし、さらに効率的にフロー反応を進行させるためには、オプションを考慮することが有益である。例えば、連続して別のサンプルを注入することにより基質や試薬の最適化をしたい場合、オートサンプラーを用いることで簡便化できる。また、溶媒などを検討したい場合、切り替えバルブを導入する。さらに、反応温度を精密に制御したい場合、または、グラジエント昇温したい場合、ヒーターやクーラーを設置する。また、反応を促進するために、熱、光、電気、マイクロ波、超音波など多くの外部刺激技術を導入することができる。

反応後の後処理プロセスでも、さまざまなオプションが存在する。例えば、プロセス分析技術（PAT：Process Analytical Technology）を駆使することで、反応の進行度合いや中間体の検出が可能である。IR（メトラー・トレド社など）、NIR（ビートセンシング社など）、NMR（Magritek社など）は高い汎用性を有し、一度に多くの情報を得られる。また、既存のHPLCの検出器（紫外可視吸光度、PDA、蛍光、示差屈折率、円二色性、旋光度）を活用することも可能で、

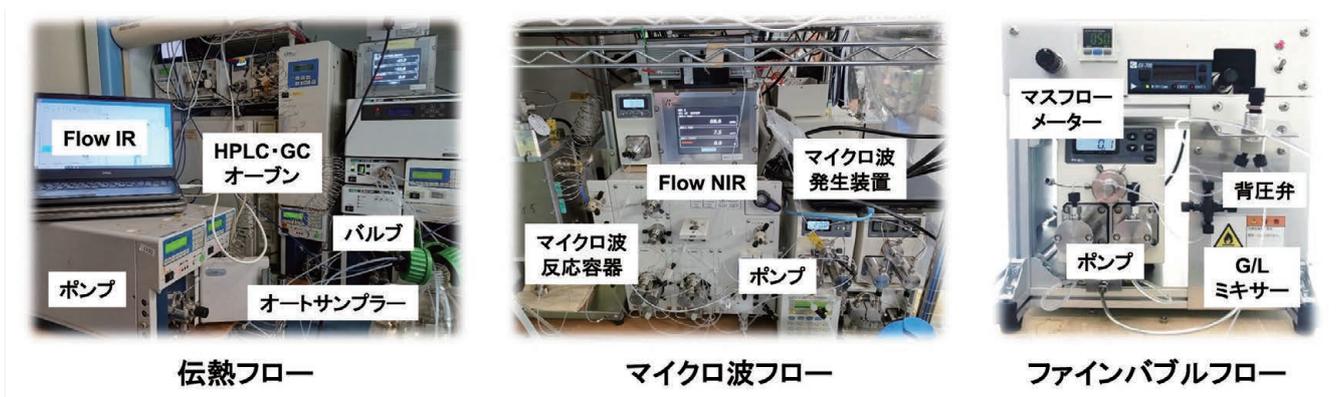


図2. 静岡大学 間瀬研究室で自作、または改良したフロー装置

HPLCシステムを利用することは現実的な選択肢となる。

反応と解析を連続的に実施しても、生成物の精製を連続的に実施できなければ、反応溶液が溜まっていく一方である。反応停止剤に水を用いた場合、非混和性の液-液抽出が必要になる。分液ロートを駆使して、連続的に抽出することも可能であるが、ミキサーセトラー（マックエンジニアリング社など）や膜分離法（Zaiput Flow Technologies社など）により、連続的に有機相と水相を分離できる。

研究室で生産まで検討することは稀であるため、連続晶析装置の小型化はあまり進んでいない。しかし、iFactory社（異業種8社と1機関の連携）は晶析から袋詰めまでのプロセスを連続化する技術を開発しており、商用生産への展開が推進されている。

◆フロー合成を始めてみよう

フロー合成への取り組み方法は多岐にわたるが、まず必要な装置を自作するアプローチが1つの手段であり、最終的に応用が利くようになる。これまでも紹介したように、日本国内では、フロー合成システム構築に必要な多くのパーツを手に入れることができる。最小構成ならば、30万円程度で装置をそろえられる（例、YMC社製KeyChemスタンダードシステム）。また、既存の分析装置の活用も考慮するのが良

い。HPLCやGCのシステムは、フロー合成システムと基本構造が同じで、精密な流量制御や検出能力が求められるフロー合成において非常に有用である。研究室で眠っている状態のHPLC装置などがあるならば、それらを再活用する絶好の機会と言える。

既存の装置をカスタマイズすることで、各自の研究に最適なフロー合成システムを構築できる。静岡大学 間瀬研究室で実際に稼働しているフローシステムについて紹介する（図2）。まず、反応温度を精密に制御するために、HPLC用（室温～80℃）とGC用（室温～300℃）のカラムオープンを取り付け、伝熱フローシステムを構築した（図2左）。オートサンプラーと切り替えバルブの追加により、ハイスループット実験が可能となった。反応の進行状況はIRとNIRでインライン解析し、フラクションコレクターでサンプルを回収する。写真からもわかるように、インライン解析と切り替えバルブ以外は、研究室にあった装置を有効活用してシステムを構築した。HPLCシステムを用いることで、流量や温度、サンプルの導入やバルブの切り替えをパソコンから制御できる。ただし、異なるメーカーのGCオープン、フラクションコレクター、熱電対などは別途制御が必要で、これにはシステムエンジニアの協力や通信の標準化（OPC Unified Architecture（OPC

UA）などの推進が必要である。

また、ヒーター以外の熱源として省電力化や特殊効果が期待できるマイクロ波が注目されている⁸⁾。そのフロー化は難航したが、近年の技術進歩によりフロー装置（サイダ・FDS社製）が開発され、デスクトップでマイクロ波フロー合成が可能となった。更なる装置の追加により、グラジエントフローやその他高度なフロー合成も可能となり、デスクトップで月産1トンの合成が視野に入ってきた（図2中）。

さらに、これまで存在しなかったフロー装置を自分たちで作りに上げることもできる（図2右）。例えば、気相が関与する多相系反応に、ファインバブルを導入することで反応効率を向上できる。ファインバブル発生機構をフローシステムに組み込むことで、水素化反応などの効率化が達成された⁹⁾。

今回はフロー合成の基礎 ～要素技術と設計～について概観したが、これまでフロー合成は難しそうと感じていた方も、以上の例からもわかるように、既存の装置を活用したり、改良したり、自分たちでシステムを構築したりすることで、フロー合成を実行できると感じていただけたのではないだろうか。遠い存在だったフロー合成が、もしかしたら、明日からでも始められるかと思っただけなのではないだろうか？それがフロー合成の一般化につながるので、ぜひ、挑戦してい



ただきたい¹⁰⁾。次回は、フロー合成の
実践と学術・産業への応用について紹
介する。お楽しみに。

【参考文献】

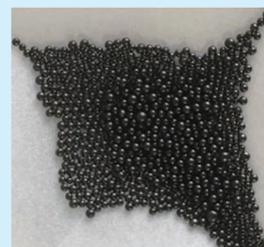
- 小林修, 小野澤俊也:「有機合成のためのフ
ロー化学」(東京化学同人)(2020).
- Guidi, M. et al.: *Chem. Soc. Rev.*, **49** (24),
8910 (2020).
- Plutschack, M. B. et al.: *Chem. Rev.*, **117**
(18), 11796 (2017).
- Epps, R. W. et al.: *Chem. Sci.*, **12** (17), 6025
(2021).
- Lee, C.-Y. et al.: *Chem. Eng. J.*, **288**, 146
(2016).
- Thorat, S. et al.: *Res. Rev.: J. Chem.*, **11** (7),
1 (2022).
- Wu, B. et al.: *Chem. Eng. J.*, **326**, 350 (2017).
- Sajiki, H.: *Chem. Rec.*, **19** (1), 2 (2019).
- Iio, T. et al.: *Synlett*, **31** (19), 1919 (2020).
- Hone, C. A. and Kappe, C. O.: *Chem.
Methods*, **1** (11), 454 (2021).

水添還元用フロー触媒

Pd/C, 球状、Pt/C, 球状

本品は、水素ガスを用いた還元反応の触媒であるPd/C、Pt/Cをフロー反応用に球状に加工したのになります。水素ガスを用いたフロー反応に用いることによって、オレフィン、ニトロ基を効率よく還元します。フロー合成の研究・開発にぜひご利用下さい。

Wako

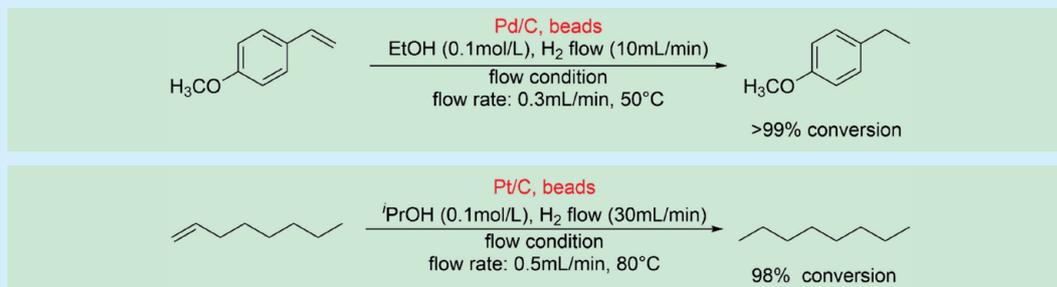


特長

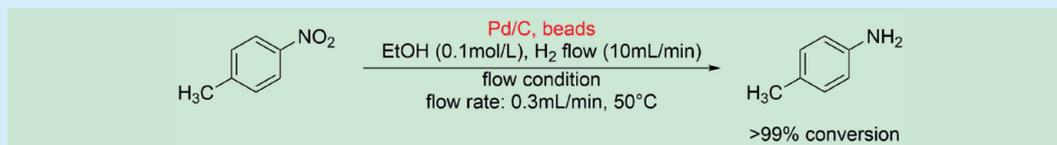
- 球状で粒子径が約 200 μm で均一
- 圧力がかかってもつぶれにくい
- 圧力損失が小さく、フロー反応に適している

データ

■ オレフィンの還元



■ ニトロ基の還元



■ 脱ベンジル化



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
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

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、2023年10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4回 細胞外小胞の産業化に向けた標準開発の取り組み

富士フイルムホールディングス株式会社 知的財産部 国際標準化推進室 河内 幾生

はじめに

細胞は脂質二重膜を有する小胞にタンパク質や核酸などの機能分子を内包し、分泌している。分泌された小胞が、体液を通じて周囲の細胞や遠隔地の細胞へと運ばれ、その小胞を受容した細胞に機能分子を受け渡すことで、細胞間コミュニケーションツールとして様々な生命現象及び疾患に関与することが明らかになってきている。このような細胞外小胞 (Extracellular vesicles : EVs) は、その産生経路もしくはサイズによって、エンドソームに由来する約100 nm のエクソソーム (Exosome)、細胞膜に由来するマイクロサイズのマイクロベシクル (Microvesicle)、死細胞の膜に由来するアポトーシス小体/小胞 (Apoptotic body) の3種類に大きく分別できる。

細胞外小胞、特にエクソソームは、細胞、組織・臓器に対して様々な作用をもたらすと考えられており、その中でも抗炎症作用や免疫制御作用、組織修復作用などは特定の疾患に対する治療薬として活用できることが期待されている。特に、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell : MSC) を用いた再生医療において、MSC が持つ治療効果は細胞自身が組織の細胞へ分化して修復する場合もあるが、MSC の分泌物 (Secretome) による効果が高いとも考えられている¹⁾。

このように、基礎研究が進みつつあるエクソソームに対して、製造工程において細胞加工物との類似性もあるため、再生医療等安全性確保法の対象に加えることが第69回厚生科学審議会再

生医療等評価部会 (令和3年12月1日) において議論された。結論は、細胞加工物というよりも細胞断片として扱い、最終的なヒトへの投与物としての明確な定義付けを行うことは、現時点では困難と判断された²⁾。今後の技術進展や諸外国における規制状況などの変化を踏まえて、再考される機会があると思われる。

研究開発の促進や、将来的に必要となる規制当局との対話の効率化など、エクソソームの産業化を実現させるための施策として、ガイドラインの整備は必須である。本稿では、主たる既存のガイドラインを概説したうえで、エクソソームへの適用可否、新たなガイドラインとして「標準」の必要性を説明する。

再生医療分野の標準開発状況

ICH (医薬品規制調和国際会議) では、医薬品の品質・有効性・安全性に関するガイドラインが整備されている (表1)。しかしながら、これらは低分子医薬品、生物薬品を主な対象としたものであり、適用範囲に細胞は含まれていない。細胞は低分子化合物やタンパク質と比較して、化学式で構造を表現できない、サイズが桁違いで大きい、ヘテロ性が高いなど複雑であるため、これらのガイドラインを解釈して適用することは困難である。そこで、細胞を対象とした標準の整備が、ISO (国際標準化機構) を中心に進められている。標準は、開発プロセスに規制当局の承認が含まれない点を除き、ICHガイドラインと同義である。また、

通常は3年と比較的短期間で開発できること、5年ごとに維持・改訂・廃止を判断する定期見直しを必須としていることから、先端分野のガイドラインとして適している。米国では、2016年12月に“21st Century Cures Act”が制定され、その3036項に、再生医療の開発、評価、及び審査を支援するために、アメリカ食品医薬品局 (FDA) がアメリカ国立標準技術研究 (NIST) などの利害関係者と標準開発の優先順位付けを行い、標準開発を推進することが規定されている⁴⁾。これを受けてFDAは、2019年3月に発出した産業界向けのガイダンスの中で、製品開発や承認申請に標準を活用するとそれらのプロセスが効率化されて成功確率が高まる、と説明して標準の活用を推奨している⁵⁾。

再生医療分野の国際標準は、国際標準化機構の専門委員会276 (ISO/TC 276 ; バイオテクノロジー) において開発されている。本委員会は、2023年8月時点で4つの作業グループ (WG) から構成され、再生医療分野の標準は主として作業グループ3 (WG 3 ; 分析



ICH ガイドライン

医薬品の品質・有効性・安全性の各分野のトピックごとに、各メンバーを代表する専門家が専門家作業部会で協議し、規制当局代表者の承認を経て作成される科学的・倫理的に適切と考えられる指針

[出典 : PMDA ホームページ (改変)]

標準

与えられた状況において最適な秩序を達成することを目的に、共通的に繰り返して使用するために、活動又はその結果に関する規則、指針又は特性を規定する文書であって、合意によって確立し、一般に認められている団体によって承認されているもの

[出典 : JIS Z 8002, 3.2]³⁾

表1. 主なICHガイドライン 品質シリーズ

ICH-Q2 (R1)	分析法バリデーション：実施項目&実施方法
ICH-Q3A (R2)	原薬の不純物
ICH-Q6A	医薬品の規格及び試験方法
ICH-Q6B	バイオ医薬品の規格及び試験方法
ICH-Q8 (R2)	製剤開発
ICH-Q9	品質リスクマネジメント
ICH-Q10	医薬品品質システム
ICH-Q11	原薬の製造と開発
ICH-Q12	医薬品のライフサイクルマネジメント

方法) 及び作業グループ4 (WG 4; バイオプロセッシング) において取り扱われている。また、36か国の積極参加メンバー (P-メンバー) と16か国のオブザーバーメンバー (O-メンバー) が参画 (図1)、議長及び幹事をドイツ、WG 3のコンビーナを米国、WG 4のコンビーナを日本が担っている。ISO/TC 276の国内審議団体は、日本産業標準調査会 (JISC) から承認を受けた一般社団法人再生医療イノベーションフォーラム (FIRM) が担い、産官学より約85名が参画している。

ISO/TC 276において開発・発行されている再生医療に関わる標準を、「分析方法」、「周辺産業」、「製造」と分類して、以下で詳述する (図2、表2)。

「分析方法」に関する代表的な標準は、日米が共同開発したISO 23033 (細胞治療製品の試験及び特性評価に関する一般要求事項及び考慮事項)⁶⁾ であり、目的に適合する分析法のデザイン、分析法の妥当性確認、試験、及び報告に関する一般要求事項が規定されている。これは、ICH-Q6シリーズの細胞版と位置付けられ、従来は、各人がICH-Q6B (バイオ医薬品の規格及び試験方法) を参照して細胞を扱うための解釈を行い適用せざるを得ず、解釈の過程でバラツキが生じていた問題を解決した。

「周辺産業」に関する標準は、それぞれの対象とする製品・サービスの供給者と使用者 (すなわち、細胞治療製品の開発・製造者) 双方の役割を規定したものである。例えば、ISO 20399 (細胞治療製品及び遺伝子治療製品の製造時に使用する補助材料)⁷⁾ では、供給者が提供すべき情報及び使用者が採否を判断するために実施すべき事項を規定している。両者が標準に準拠することにより、使用者は目的に適合した補助材料の採用判断が可能となる。

「製造」に関する標準は、製品ライフサイクルを通して一貫性のある製造



図1. ISO/TC 276参加国

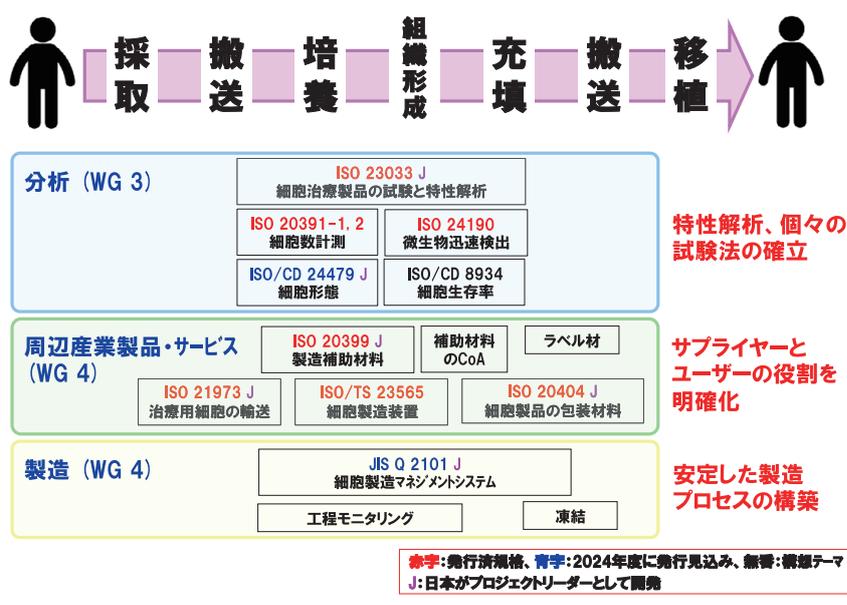


図2. 再生医療関連の標準群

の実現を図るための「細胞製造マネジメントシステム」である。製造フローにおける不安定要因の抽出とリスクアセスメント、管理計画の策定、製造試作、レビューの実施、及び必要に応じこのサイクルを繰り返すPDCAを中心に規定したものである。日本が提案してアジア圏を中心に多くの国々の賛同を得つつあったが、英米の一方的な反対を受け、一旦提案を取り下げて、日本産業規格 (JIS) としての開発を開

始した。発行後に国内、次いでアジア圏に普及させ、再度ISOに提案する方針である。

エクソソームに対する標準活用・開発の提案

エクソソームは細胞を由来として製造されるため、生物薬品の一種と扱うことは可能である。しかし、タンパク質や核酸などを脂質二重膜が内包する

多様な構成成分による複雑な構造物であるため、単純にタンパク質から成る抗体と同様に扱うことには難しさがある。エクソソームの製造プロセスに基づき、適用可能な標準、新規開発が必要な標準について考察する(図3)。

エクソソームの製造プロセスの概略は、細胞調製⇒細胞培養(エクソソーム産生)⇒濃縮・精製⇒製剤化である。

細胞調製及び培養工程においては、上記の再生医療に関わる標準群の適用が可能である。品質管理においては、ISO 23033をはじめとする「分析方法」に関わる標準群、製造関連では、ISO 20399、ISO/TS 23565などの「周辺産業」に関わる標準群、さらに「製造」に関わる細胞製造マネジメントシステムはそのまま適用可能である。ただし、細胞製造マネジメントシステムの目的であるQuality by Designの考え方の適用範囲を、エクソソームを含む培養液を最終製品と見做して培養工程までに留めるか、エクソソームの製剤化まで含む製造工程全体に広げるか、議論が必要である。

一方、工程モニタリングを含めた産生したエクソソームの分析には、ISO 23033にもICH-Q6Bにもエクソソームに特化した記述はなく、それらの適用は不十分である。エクソソームの特性解析と試験に関わる標準は、新規開発のニーズがある。

産生したエクソソームを含む細胞培養液を目的とする製品形態にするためには、濃縮やマイクロベシクル・アポトース小体・細胞や目的外のエクソソームを除去する精製が必要である。濃縮・精製工程に関しては、多くの方法が提案されているが、それらの中から方法を選択し、目的に適合する製品形態にすることは、エクソソームの産業化における鍵となる。論文などでは、超遠心法などによる濃縮を実施している例が多いが、多量処理ができないため、そのまま実用化に向けて適用することは難しい。また、精製方法に

表2. 再生医療関連の標準(網掛は開発中)

分類	番号	表題	備考
分析方法	ISO/CD 8934	バイオテクノロジー —細胞生存率分析方法に関する一般考慮事項と要求事項— 第1部: 哺乳類細胞	
	ISO 20391-1: 2018 ⁸⁾	バイオテクノロジー —細胞計数— 第1部: 細胞計数法の一般ガイダンス	
	ISO 20391-2: 2019 ⁹⁾	バイオテクノロジー —細胞計数— 第2部: 計数法パフォーマンスを定量化するための実験計画と統計分析	
	ISO 23033: 2021	バイオテクノロジー —分析方法— 細胞治療製品の試験及び特性評価に関する一般要求事項及び考慮事項	日米協働提案
	ISO 24190: 2023 ¹⁰⁾	バイオテクノロジー —分析方法— バイオプロセスにおける迅速な微生物検出のための方法の選択と検証のためのリスクベースのアプローチ	
	ISO/CD 24479	バイオテクノロジー —細胞の形態学的解析の最小要件— 画像捕捉、画像処理、及び形態計測	日本提案
製造	JIS Q 2101	バイオテクノロジー —細胞製造マネジメントシステム	日本提案
周辺産業	ISO 20399: 2022	バイオテクノロジー —細胞治療製品及び遺伝子治療製品の製造時に使用する補助材料	
	ISO 20404: 2023 ¹¹⁾	バイオテクノロジー —バイオプロセス— 治療用細胞を包含する包装材料の設計に関する一般要求事項	日本提案
	ISO 21973: 2020 ¹²⁾	バイオテクノロジー —治療用細胞の輸送に関する一般要求事項	日本提案
	ISO/TS 23565: 2021 ¹³⁾	バイオテクノロジー —バイオプロセス— 治療用細胞の製造に用いられる機器システムに関する一般要求事項及び考慮事項	日本提案

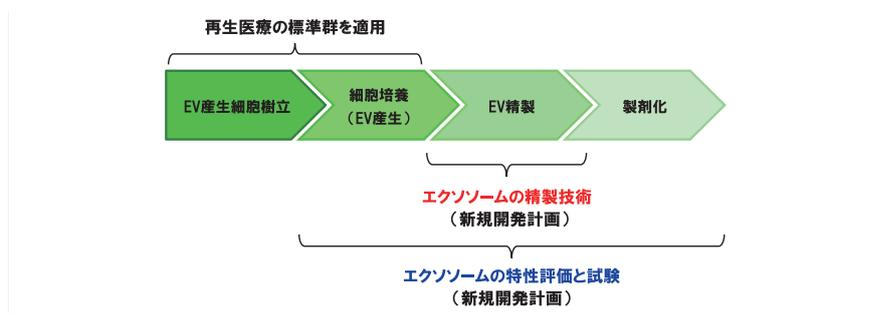


図3. エクソソームに対する標準活用

よってはエクソソーム以外の不純物の混入が多く、精製度が最終製品の特性に影響するリスクがある。さらにエクソソームのサイズによる活性成分の違いや特定のサイズ以外の細胞外小胞が有効成分を含まない場合、それは不純物として捉えることもできるため、サイズの確認も重要になり得る。目的に適合した精製方法を選択することを支援するために、各精製方法の特徴、採用に当たって留意すべき事項などが記載されたガイドラインが必要となる。しかしながら、現状は適切なものが存在しておらず、新規標準開発のニーズとしてISO/TC 276/WG 4で議論が開始された。今後の進展に期待したい。

おわりに

基礎研究が着実に進展しているエクソソームの産業化に向けての課題の一つに、ガイドラインとして標準の整備が挙げられる。この目的に対し、再生医療用途として開発された標準群の活用啓蒙、特性解析・試験、濃縮・精製を含むエクソソーム特有の課題に対処すべき標準開発の推進に取り組む。

【参考文献】

- 1) エクソソームを含む細胞外小胞(EV)を利用した治療用製剤に関する報告書, 独立行政法人医薬品医療機器総合機構
<https://www.pmda.go.jp/files/000249829.pdf>
- 2) 第69回厚生科学審議会再生医療等評価部会議事録

- <https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002azw3.html>
- 3) ISO/IEC Guide 2 : 2004, Standardization and related activities — General vocabulary (対応JIS : JIS Z 8002 : 2006, 標準化及び関連活動—一般的な用語)
 - 4) 21st Century Cures Act, <https://www.congress.gov/bill/114th-congress/house-bill/34>
 - 5) Food and Drug Administration - Center for Biologics Evaluation and Research, Standards Development and the Use of Standards in Regulatory Submissions Reviewed in the Center for Biologics Evaluation and Research - Guidance for Industry, 2019
 - 6) ISO 23033 : 2021, Biotechnology — Analytical methods — General requirements and considerations for the testing and characterization of cellular therapeutic products
 - 7) ISO 20399 : 2022, Biotechnology — Ancillary materials present during the production of cellular therapeutic products and gene therapy products
 - 8) ISO 20391-1 : 2018, Biotechnology — Cell counting — Part 1 : General guidance on cell counting methods
 - 9) ISO 20391-2 : 2019, Biotechnology — Cell counting — Part 2 : Experimental design and statistical analysis to quantify counting method performance
 - 10) ISO 24190 : 2023, Biotechnology — Analytical methods — Risk-based approach for method selection and validation for rapid microbial detection in bioprocesses
 - 11) ISO 20404 : 2023, Biotechnology — Bioprocessing — General requirements for the design of packaging to contain cells for therapeutic use
 - 12) ISO 21973 : 2020, Biotechnology — General requirements for transportation of cells for therapeutic use
 - 13) ISO/TS 23565-1 : 2021, Biotechnology — Bioprocessing — General requirements and considerations for equipment systems used in the manufacturing of cells for therapeutic use

関連製品

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格 (円)
MSC増殖培地				
132-19345	MSCulture™ High Growth Basal Medium Ref	細胞培養用	500mL	15,500
133-19331	MSCulture™ High Growth Supplement E	細胞培養用	5mL	6,000
EV産生用培地				
053-09451	EV-Up™ EV Production Basal Medium for MSC, AF Ref	細胞培養用	95mL	12,000
298-84001	EV-Up™ MSC EV Production Supplement, AF E	細胞培養用	100mL用	19,800
単離/精製キット				
294-84101	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS Ver.2 Ref	遺伝子研究用	2回用	20,000
290-84103			10回用	80,000
ELISAキット				
297-79201	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD) Ref	遺伝子研究用	96回用	68,000
298-80601	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) Ref	遺伝子研究用	96回用	68,000
296-83701	CD9-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) Ref	遺伝子研究用	96回用	100,000
290-83601	CD63-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) Ref	遺伝子研究用	96回用	100,000
292-83801	CD81-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) Ref	遺伝子研究用	96回用	100,000
エクソソーム膜透過処理用キット				
294-85701	EV-Perm™ Permeabilization Pretreatment Kit for Exosome Membrane E	遺伝子研究用	1キット	20,000

エクソソーム関連インハウスセミナー実施中！

「製品のことを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、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）を実施します。参加人数は1名様でも構いません。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。

申し込み後、担当者よりメールにてご連絡させていただきます。

- 内容 エクソソーム関連試薬・受託サービスのご紹介
- 時間 30分～60分程度
- 費用 無料
- 言語 日本語
- 形式 オンライン
- 参加人数 1名様～

※1研究室/1グループにつき1回の開催とさせていただきます。

申込はこちら↓



Ref…2～10℃保存 E…20℃保存 36…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、2023年10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

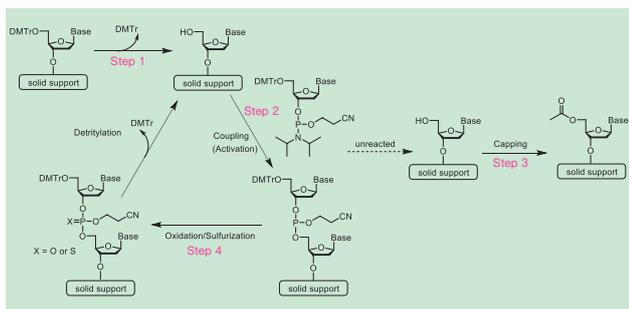
Wako

オリゴヌクレオチド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。この合成は主に自動合成装置で行われることから、ホスホロアミダイト法の各反応工程に用いる専用試薬（適切な濃度や組成に調製された反応補助試薬）が必要になります。当社では、核酸合成に適した品質の反応補助試薬（溶液）をご提供しています。

この度、ラボスケール合成のおお客様のご要望にお応えして、反応補助試薬（溶液）の500mL包装をラインアップに追加しました。「危険物の指定数量に困っている」「毎回使い切りたい」お客様は500mL包装をご利用下さい。

データ

■ ホスホロアミダイト法の反応機構



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
045-34445	Deblocking Solution [Dichloroacetic Acid-Toluene (3:97)]	核酸合成用	500mL	12,000
047-34525	Deblocking Solution [Dichloroacetic Acid-Toluene (5:95)]	核酸合成用	500mL	19,000
040-34515	Deblocking Solution [Dichloroacetic Acid-Toluene (10:90)]	核酸合成用	500mL	20,000
013-19685	Activator Solution-1 (0.25mol/L 4,5-Dicyanoimidazole, Acetonitrile Solution)	核酸合成用	500mL	9,810
015-20015	Activator Solution-3 (0.25mol/L 5-Benzylthio-1H-tetrazole, Acetonitrile Solution)	核酸合成用	500mL	9,700
010-19695	Activator Solution-4 (0.25mol/L 5-Ethylthio-1H-tetrazole, Acetonitrile Solution)	核酸合成用	500mL	8,900
033-25395	Cap A Solution [1-Methylimidazole-Acetonitrile (2:8)]	核酸合成用	500mL	14,000
036-25385	Cap B1 Solution [Acetic Anhydride-Acetonitrile (4:6)]	核酸合成用	500mL	14,000
039-25635	Cap B2 Solution [Pyridine-Acetonitrile (6:4)]	核酸合成用	500mL	14,000
039-25375	Cap B2 Solution [2,6-Lutidine-Acetonitrile (6:4)]	核酸合成用	500mL	14,000
150-03515	Oxidizing Solution [Iodine Solution (abt. 0.05mol/L)] [Pyridine:Water (9:1)]	核酸合成用	500mL	10,000

核酸合成用試薬のラベルデザインが新しくなりました！



当社核酸合成用試薬ラベル

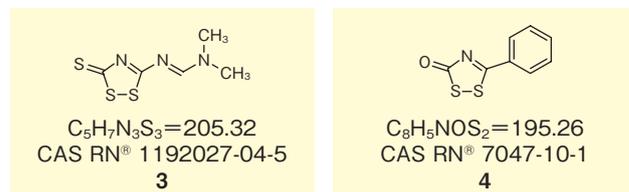
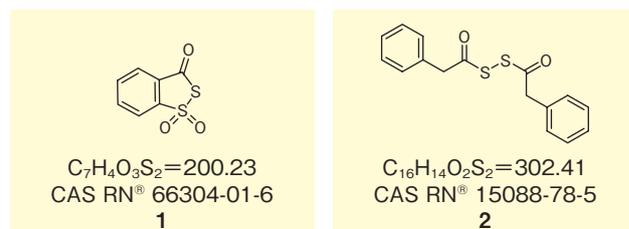
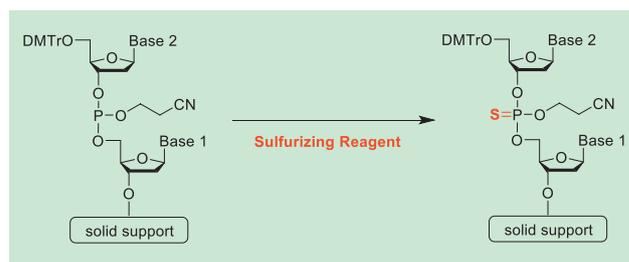
高濃度品もラインアップ充実

核酸合成用試薬 硫化剤

Wako

核酸のりん酸部位の修飾には、O（酸素原子）をS（硫黄原子）に置換したホスホロチオアート修飾があります。核酸医薬では、酵素の標的となるりん酸エステル結合をチオリン酸エステル結合に変換することで、生体内での安定性を高めることが広く知られています。

このホスホロチオアートへの変換には種々の効率的な硫化剤が開発されてきました。その内のひとつであるDDTTは、反応性及び安定性に優れることから最もよく用いられていますが、一方で、非常に結晶性が高く、反応溶媒への溶解性が低いことが欠点です。そのため、反応で使うには「調液が手間」「高濃度に調液するのが難しい」といった不便さがあります。そこで、当社ではあらかじめ調液した溶液品を2種類の濃度でご提供しています。室温保管中に結晶が析出しないことを確認しているため、安心してお使いいただけます。



Ⓔ…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、2023年10月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

粉末品

No.	コード No.	品名	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
1	324-72121	3H-1,2-Benzodithiol-3-one 1,1-Dioxide 【Beaucage試薬】 	富士フィルム ワコーケミカル	500mg	10,600
2	027-19422 021-19425	Bis(phenylacetyl) Disulfide 【PADS】	核酸合成用	25g 500g	22,500 照会
3	042-34411 040-34412 044-34415	[(N,N-Dimethyl aminomethylidene)amino]- 3H-1,2,4-dithiazoline-3-thione 【DDTT】	核酸合成用	5g 25g 500g	19,800 69,300 照会
4	166-28251 164-28252 168-28255	5-Phenyl-3H-1,2,4-dithiazol- 3-one 	核酸合成用	5g 25g 500g	19,800 69,300 照会

溶液品

No.	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
3	196-18761 198-18765	Sulfurizing Solution {0.05mol/L [(N,N- Dimethylaminomethylidene) amino]-3H-1,2,4-dithiazoline- 3-thione Solution} 【Pyridine-Acetonitrile (6:4)】 	核酸合成用	100mL 500mL	23,000 110,000
3	193-18771 195-18775	Sulfurizing Solution {0.08mol/L [(N,N- Dimethylaminomethylidene) amino]-3H-1,2,4-dithiazoline- 3-thione, Pyridine Solution} 	核酸合成用	100mL 500mL	22,000 75,000
4	199-18751 191-18755	Sulfurizing Solution (0.05mol/L 5-Phenyl-3H- 1,2,4-dithiazol-3-one, Acetonitrile Solution)  	核酸合成用	100mL 500mL	19,800 60,000
4	192-18741 194-18745	Sulfurizing Solution (0.1mol/L 5-Phenyl-3H- 1,2,4-dithiazol-3-one, Acetonitrile Solution)  	核酸合成用	100mL 500mL	22,000 75,000

バイオマテリアルなどの研究・開発に

Wako

機能性ポリマー

近年、人工臓器に代表される生体適合性材料、ドラッグデリバリーシステム (DDS)、細胞培養シートなどバイオマテリアルの研究・開発が活発に行われています。これらに使用される高分子材料の共通の特長として、非イオン性かつ親水性であることが挙げられます。当社では、本用途向けへの利用が期待される機能性ポリマーをラインアップしました。

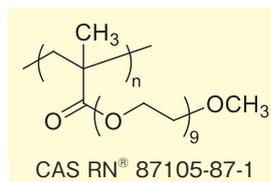
■ポリ (メタクリル酸メトキシPEG-9)

ポリエチレングリコール (PEG) は、非イオン性の水溶性ポリマーであり、これまで様々なバイオマテリアル材料に使用されています。ポリ (メタクリル酸メトキシPEG-9) は側鎖に長いPEG鎖を有する、非イオン性・親水性ポリマーです。本品は、ヒアルロン酸に匹敵する高い保

湿持続性を有することが知られています¹⁾。

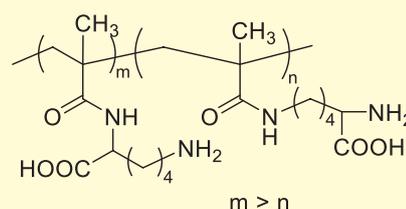
特長

- 非イオン性・親水性
- ヒアルロン酸に匹敵する高い保湿持続性



■ポリメタクリロイルリシン

アミノ酸は、生命体を支えるタンパク質の構成成分であり、そのアミノ酸を組み込んだポリマーはペプチドを含め様々な材料に応用されています。ポリメタクリロイルリシンは、リシンをメタクリロイル化した2種類のモノマーを重合させた正電荷を有するアミノ酸ペンダント型ポリマーです。



特長

- 水溶性
- アミノ基が正電荷を有するため、負電荷の表面に吸着
- アミノ基とカルボキシル基は化合物の結合部位として利用可能

【参考文献】

1) Akiyama, T. et al. : J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn., 48, 184 (2014).

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)
NEW 351-46381	Poly (Methoxy PEG-9 Methacrylate) Solution (abt. 20%) 【Water-1,3-Butanediol Solution】 【Evemoist®】 	100g	14,000
NEW 358-46391	Polymethacryloyl Lysine 【Curevelist®】	5g	19,500

Evemoist®, Curevelist®は富士フィルム和光純薬の登録商標です。

その他の機能性ポリマーは当社のHPをご覧ください。
試薬事業トップ→合成・材料→高分子材料→機能性ポリマー

https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/synthesis/polymer_material/polymer/index.html

グレードアップ!

Wako

認証標準物質 元素標準液 (CRM)

当社は2023年3月に日本初のASNITE認定に基づいた、元素標準物質生産者の包括的認定（フレキシブル認定）を取得しました。本認定取得に伴い、ICP分析用元素標準液を順次、SIトレーサブルな認証標準物質（CRM）へ切り替えてまいります。

従来品につきましては、現在庫をもって販売終了とさせていただきます。

新製品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
143-10091	Neodymium Standard Solution (Nd 1000) [CRM]	ICP分析用	100mL	照会
259-00711	Yttrium Standard Solution (Y 1000) [CRM]	ICP分析用	100mL	11,000

従来品 (販売終了予定)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
143-09861	Neodymium Standard Solution (Nd 1000)	ICP分析用	100mL	15,000

詳細は当社HPをご覧ください。

試薬事業トップ→分析→ICP→単元素標準液→ICP分析用元素標準液

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

追加品目のお知らせ

Wako

ポジティブリスト関連農薬・動物用医薬品標準品

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おります。

下記品目を新たに発売しました。

農薬標準品

- シクロピリモレート標準品
- フルエンズルホン標準品
- フルオキサストロビン代謝産物M55標準品
- メトプロムロン標準品

動物用医薬品標準品

- ツラスロマイシンA標準品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-26041	Cyclopyrimorate Standard	残留農薬試験用	50mg	照会
060-07061	Fluensulfone Standard	残留農薬試験用	50mg	29,000
062-07021	Fluoxastrobin Metabolite M55 Standard	残留農薬試験用	100mg	37,000
138-19401	Metobromuron Standard	残留農薬試験用	100mg	12,000
201-21411	Tulathromycin A Standard	高速液体クロマトグラフ用	100mg	20,000

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 をご覧ください。

試薬事業トップ→分析→残留農薬・動物用医薬品→農薬・動物用医薬品混合標準液検索パネル

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/product/search/pesticides.html>

和光純薬時報 Vol.91 No.3 訂正案内

平素より当社製品をご愛顧頂き、誠にありがとうございます。

和光純薬時報 Vol.91 No.3 の記事中に誤りがございました。下記の通り訂正をご案内させていただくとともに、深くお詫び申し上げます。

記

< 訂正内容 >

①掲載箇所：p.26

訂正箇所：ポジティブリスト関連農薬・動物用医薬品標準品

「228-02461 Valnemulin Hydrochloride Standard 50mg」の価格

訂正内容：[誤] 30,000 円 [正] 40,000 円

②掲載箇所：p.29

訂正箇所：「071-05473 GGsTop™ 100mg」の規格

訂正内容：[誤] 細胞培養用 [正] 細胞生物学用

なお、ホームページ掲載 PDF ファイルは訂正しております。

以上

D/L-アミノ酸(キラルアミノ酸) LC/MS分析用誘導体化試薬 (R)-BiAC 誘導体化試薬セット

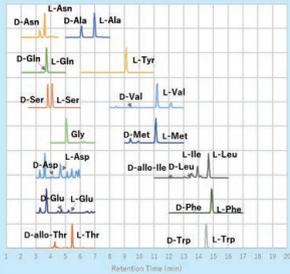
Wako

アミノ酸は生体内や天然に広く存在する化合物です。アミノ酸には鏡像異性体であるL-アミノ酸及びD-アミノ酸がありますが、ほとんどがL-アミノ酸として存在しています。近年、微量に存在するD-アミノ酸について記憶・学習能力への関与等の機能が明らかにされ、L-アミノ酸と分離分析する重要性が高まっています。

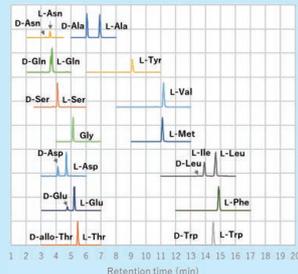
(R)-BiACは、D/L-アミノ酸をLC/MSで分析する際の誘導体化試薬です。(R)-BiACを用いることにより、キラルアミノ酸を高分解度・短時間(12分)かつ、専用機器を用いずに分析を行う事ができます。この度、誘導体化をより簡便にする専用キットを発売しました。

アプリケーションデータ

尿中の15種アミノ酸の分析例



乳酸菌飲料中の15種アミノ酸の分析例



分析条件

[HPLC]

Column: Wakopak® Ultra APDS TAG® φ 2.1mm × 100mm (D)

Column temperature: 40°C

Eluent: A) 0.1% HCOOH in 10mM HCOONH₃ aq.,

B) 95% CH₃CN in H₂O

Gradient:

Time (min.)	B conc. (%)
0-3	14-16
3-14.3	16-33
14.3-17	33-45
17-17.1	45-90
17.1-18	90
18-18.1	90-14
18.1-20	14

Flow rate: 0.4mL/min.

[MS]

Ionization: ESI

Mode: SRM

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
025-19761	(R)-BiAC	アミノ酸分析用	5mg	照会
296-86001	(R)-BiAC Derivatization Reagents Set	アミノ酸分析用	1キット	照会
235-64051	Wakopak® Ultra APDS TAG® φ2.1mm × 100mm (D)	無規格	1本	120,000

詳細は当社 HP をご覧ください。

試薬事業トップ→分析→アミノ酸・ペプチド・タンパク質
→アミノ酸(定量・組成分析)→(R)-BiAC法(キラルアミノ酸 LC/MS 分析)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/03157.html>

ガロン瓶専用保護ジャケット ガロテクト™

Wako

本製品は、ガロン瓶専用の保護ジャケットです。この度、バイオマスプラスチックを使用した赤色を発売します。溶媒種や毒劇物の識別等にご活用下さい。



バイオマスプラスチックは植物由来の原料を利用して作られた「再生可能な有機資源」です。

※ ガロテクト™(白)は通常のPPを使用した製品です。



DESIGN AWARD 2022

IF DESIGN AWARD 2022 受賞製品

※ International Forum Design GmbH が主催する賞のひとつで、全世界の優れた工業デザインに与えられます。

特長

● ガロン瓶が倒れにくくなる!



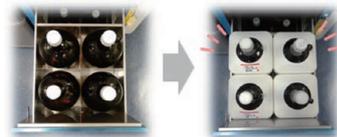
● 高耐久性!



約200 N(約20 kg)の力をかけたときの様子。

● 11種類の溶媒で耐溶剤性試験を実施!

● 保管庫にジャストフィット!



コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
293-36321	GalloTect™ (White)	無規格	1個	2,800
295-36881	GalloTect™ (Red)	無規格	1個	照会

詳細は当社 HP をご覧ください。

試薬事業トップ→常用試薬・ラボウェア→ラボウェア→安全・保護用品→ガロテクト™

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/02166.html>

医薬品製造用原料

CertiPro シリーズ

Wako

当社では、医薬品の製造工程にご使用いただくことが可能な「医薬品製造用原料」をご提供しています。日本薬局方および日本薬局方外医薬品規格（局外規）、医薬品添加物規格（薬添規）等公定書収載品目他、公定書に記載のない（non-compendialな）成分では当社の自主規格品をご提供しています。管理基準により、CertiPro（GMP管理品）とCertiPro-L（ISO9001管理品）に区分しています。

一部品目では、日本薬局方、局外規、薬添規への適合に加え、USP（米国薬局方）、Ph.Eur.（欧州薬局方）規格項目への適合、エンドトキシン試験を実施しています。

CertiPro新製品

コード No.	品名	規格	適合規格		容量	CAS RN [®]	エンドトキシン
			USP/NF	Ph.Eur.			
037-26035	グルコン酸カルシウム	日本	-	-	500g	299-28-5	1.5EU/g
033-26037	水和物「製造専用」	薬局方			10kg		未満
NEW 197-19195	精製白糖	日本	(NF)	✓	500g	57-50-1	0.2EU/g
NEW 193-19197	「製造専用」	薬局方			10kg		未満

◆精製白糖「製造専用」＜低エンドトキシンタイプ＞
精製白糖は、医薬品添加剤として錠剤の糖衣や賦形剤に用いられています。この度、新たにエンドトキシン値を0.2EU/g未満保証とした精製白糖「製造専用」を販売します。
GMP管理により製造を行っており、医薬品製造工程にご使用いただけます。

CertiPro-L新製品

コード No.	品名	容量	CAS RN [®]	エンドトキシン
NEW 196-19182	デキストラン硫酸ナトリウム5000	25g	9011-18-1	50EU/g
NEW 190-19185		500g		未満

◆デキストラン硫酸ナトリウム 5000
デキストラン硫酸ナトリウムは細胞培地の添加剤として、細胞の保存、タンパク質の前処理等に用いられています。
本品はエンドトキシン値、DNase 活性、RNase 活性を保証し、医薬品製造用原料としてご使用いただけます。

2023年版カタログ配布中！

医薬品製造用原料 CertiPro シリーズの製品ラインアップをご紹介します。

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い合わせ下さい。

なお、下記 URL・QR コードからもダウンロード可能です。
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/pharmaceutical-raw-materials/catalog/index.html>

詳細及び CertiPro シリーズの製品一覧は当社医薬品原料分野 HP をご覧下さい。
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/pharmaceutical-raw-materials/index.html>



新たにラインアップしました！ モルモット抗体

Wako

抗 MAP2, モルモット

抗パルブアルブミン, モルモット

抗オキシトシン, モルモット

本品はモルモットから得られたポリクローナル抗体です。神経科学研究にご活用下さい。

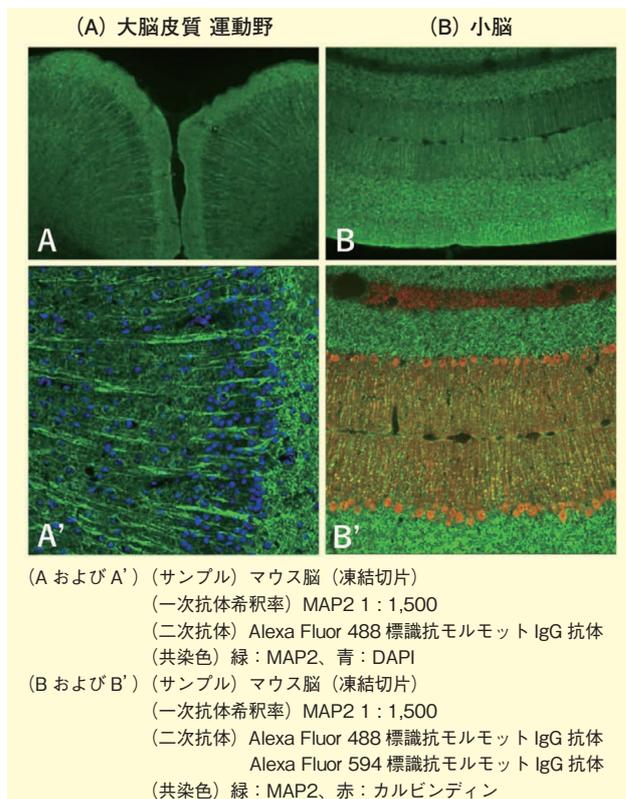
抗MAP2, モルモット

MAP2は神経細胞に豊富に存在する微小管結合タンパク質であり、汎用的なニューロンマーカーとして広く使用されます。

製品概要

組成	血清
抗原	ラットMAP2（全長）
標識	未標識
種交差性	マウス, ラット
アプリケーション	免疫組織染色（凍結切片）1：500-1,500 ※最適濃度は実験系ごとにご検討下さい。

アプリケーションデータ



（データご提供：京都工芸繊維大学 応用生物学系 宮田清司 先生）

【参考文献】

- 1) Taniguchi, Y. *et al.*: *Cell Tissue Res.*, **343**, 303 (2011).
- 2) Mannari, T. *et al.*: *Glia*, **61**, 957 (2013).
- 3) Hourai, A. and Miyata, S.: *J. Neurosci. Res.*, **91**, 757 (2013).
- 4) Morita, S. *et al.*: *Cell Tissue Res.*, **359**, 865 (2015).

抗パルブアルブミン, モルモット

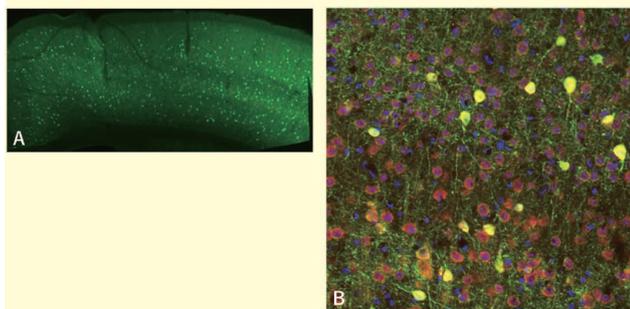
パルブアルブミンは低分子のカルシウム結合性アルブミンです。脳では一部のGABA作動性ニューロンに発現しており、抑制性ニューロンのマーカーとして広く使用されます。

製品概要

組成	血清
抗原	ラットパルブアルブミン組換えタンパク質
標識	未標識
種交差性	マウス, ラット
アプリケーション	免疫組織染色 (凍結切片) 1 : 1,000-3,200 ※最適濃度は実験系ごとにご検討下さい。

アプリケーションデータ

体性感覚野 IV-V層



- (A) (サンプル) マウス脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) パルブアルブミン 1 : 1,500
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗モルモット IgG 抗体
- (B) (サンプル) マウス脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) パルブアルブミン 1 : 1,500
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗モルモット IgG 抗体
Alexa Fluor 594 標識抗モルモット IgG 抗体
(共染色) 緑: パルブアルブミン、赤: HuC/D、青: DAPI

(データご提供: 京都工芸繊維大学 応用生物学系 宮田清司 先生)

【参考文献】

- 1) Taniguchi, Y. *et al.*: *Cell Tissue Res.*, **343**, 303 (2011).

抗オキシトシン, モルモット

オキシトシンは視床下部で産生され、下垂体後葉から放出されるペプチドホルモンです。子宮収縮や母乳分泌を促進し、母性行動の形成に関与するため、「幸せホルモン」「愛情ホルモン」などと呼ばれています。近年では、うつや自閉症などの精神疾患分野でも注目されています。

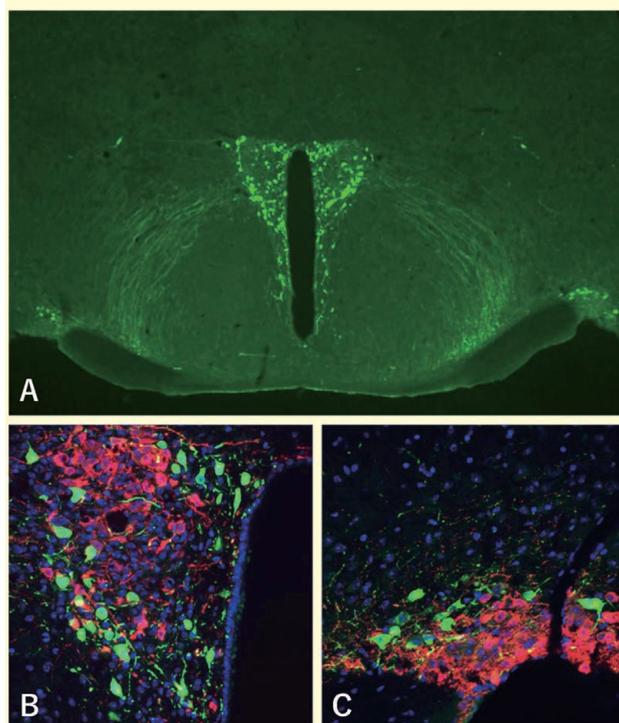
☐₂…2~10℃保存 ☐_F…-20℃保存 ☐₈₀…-80℃保存 ☐₁₅₀…-150℃保存 表示がない場合は室温保存です。その他の略号は、巻末をご参照下さい。
掲載内容は、2023年10月時点での情報です。最新情報は、当社HPをご参照下さい。

製品概要

組成	PBS, 血清
抗原	KLH結合合成ペプチド (オキシトシン配列相同)
標識	未標識
種交差性	ヒト, マウス, ラット, ウシ
アプリケーション	免疫組織染色 (凍結切片) 1 : 1,500 ※最適濃度は実験系ごとにご検討下さい。

アプリケーションデータ

(A) 視床下部 (B) 室傍核 (C) 視索上核



- (A) (サンプル) マウス脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) オキシトシン 1 : 1,500
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗モルモット IgG 抗体
- (B および C) (サンプル) マウス脳 (凍結切片)
(一次抗体希釈率) オキシトシン 1 : 1,500
(二次抗体) Alexa Fluor 488 標識抗モルモット IgG 抗体
Alexa Fluor 594 標識抗モルモット IgG 抗体
(共染色) 緑: オキシトシン、赤: パルブアルブミン、青: DAPI

(データご提供: 京都工芸繊維大学 応用生物学系 宮田清司 先生)

【参考文献】

- 1) Miyata, S.: *Front. Endocrinol.*, **8**, 275 (2017).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
新品 013-28551	Anti MAP2, Guinea Pig	免疫化学用	50μL	照会
新品 010-28561	Anti Parvalbumin, Guinea Pig	免疫化学用	50μL	照会
新品 017-28571	Anti Oxytocin, Guinea Pig	免疫化学用	50μL	照会

再生医療等製品の商業生産向けの原材料

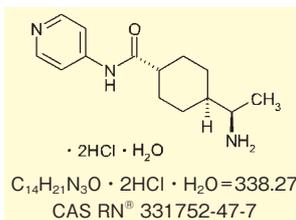
Wako

Y-27632 (GMP 準拠)

ICH-Q7 (原薬GMP) に準拠した、再生医療等製品の商業生産向けの原材料です。再生医療等製品の製造に使用できるよう、適切な品質管理体制のもとで製造されています。

Y-27632とは

選択的かつ強力なROCK (Rho-associated coiled-coil forming kinase/Rho binding kinase) 阻害剤です。ヒトES細胞やヒトiPS細胞の細胞分散時に細胞死を抑制する、また凍結保存後の細胞生存率が向上すると報告されています。



Y-27632 (GMP準拠)

GMP設備・管理体制で製造されています。生菌数試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、残留溶媒試験を行っています。

特徴

- GMP管理体制による文書化
- 生菌数試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、残留溶媒試験を実施
- ISO 14644-1クラス6相当のクリーンルームでの小分け
- 培地添加剤製造設備の専用化による汚染リスクの抑制
- プロセスバリデーション、分析バリデーション、洗浄バリデーションの実施
- 動物由来物フリー

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
252-00701	Y-27632	細胞培養用	5mg	120,000
258-00703	(GMP Compliant)※1		25mg	480,000

※1 冷所 (25℃以下) で保管して下さい。

Y-27632シリーズ

当社では4つのタイプのY-27632製品を取扱っており、使用目的に合わせてお選びいただけます。

	Y-27632 (GMP準拠)	Y-27632, MF	CultureSure® Y-27632	CultureSure® 10mmol/L Y-27632溶液, 動物由来物フリー
ICH-Q7	✓			
ISO9001	✓	✓	✓	✓
無菌試験				✓
生菌数試験	✓	✓		
動物由来物フリー	✓	✓	✓	✓
エンドトキシン試験	✓	✓	✓	✓
マイコプラズマ否定試験	✓	✓	✓	✓

関連製品

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)	
259-00613	Y-27632, MF※2	E°	細胞培養用	5mg	55,000
257-00614			25mg	220,000	
030-24021	CultureSure® Y-27632	E°	細胞培養用	1mg	16,500
036-24023				5mg	44,000
034-24024				25mg	165,000
030-24026				100mg	照会
039-24591	CultureSure® 10mmol/L Y-27632 Solution, Animal-derived-free	E°	細胞培養用	300μL	35,000
035-24593			1mL	93,500	

※2 ISO9001管理の再生医療等製品の商業生産向けの製品です。

製造工程・分析法のバリデーション、変更管理を実施しています。

詳細は、当社 HP をご覧下さい。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/03097.html>

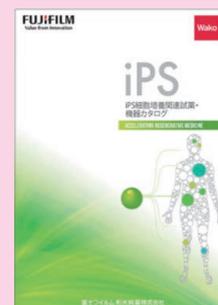


iPS細胞培養関連試薬・機器カタログ 配布中!

ヒト iPS 細胞用の無血清培地や、低分子化合物溶液、サイトカイン溶液からイメージング機器まで、iPS 細胞を扱う研究者の方々に役立つ当社の試薬・機器をラインアップしています。この度、2023 年度より新たに内容を改訂しました。ぜひ一読下さい。

カタログをご希望の場合は、下記 URL、QR コードからダウンロードして下さい。

https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/catalog/pdf/catalog_0054.pdf



血管内皮細胞系の増殖・分化誘導に

VEGF-165 溶液, ヒト, 組換え体

Wako

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor: 血管内皮細胞成長因子) は、血管内皮細胞の増殖、分化、生存に関与し重要な役割を果たします。

VEGF-165は、VEGFファミリーのひとつであり、最も発現量も多く、個体レベルでは血管新生、脈管形成に重要な因子です。胚の発育、子宮内膜との相互作用の促進の作用も報告されています。また、腫瘍血管形成や転移にも関わることから、疾患研究にも重要です。

本品は、フィルター滅菌済みの溶液品のため、そのまま培地に添加できます。溶解時のコンタミやフィルター滅菌時のタンパク質のロスがなく、安心してご使用いただけます。

本品は、味の素株式会社が製造しています。

特長

- 溶解操作が不要な溶液品
- そのまま培地に添加可能

溶液品の利点

粉末溶解時に懸念される下記のリスクが回避できます。

- 溶媒添加時のコンタミ
- フィルター滅菌時のフィルターへの吸着によるロス
- タンパク質濃度の保証
- 溶媒選択ミスによる失活

製品概要

- 起源: *Corynebacterium glutamicum* expressed human vascular endothelial growth factor-165
- 組成: 20mmol/L 酸化型グルタチオン, 20mmol/L くん酸ナトリウム, pH3.5 (0.2 μ mフィルター滅菌済み)
- 純度 (SDS-PAGE): 95% 以上
- タンパク質濃度: 0.10~0.14mg/mL
- 生物学的活性 (EC₅₀): 1~30ng/mL
(VEGFR2/NFAT レポーターアッセイ)
- エンドトキシン: 0.1EU/ μ g 未満

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
222-02481	VEGF-165 Solution, Human, recombinant	細胞培養用	10 μ g	照会
228-02483			50 μ g	照会

関連製品

サイトカイン溶液

いずれもフィルター滅菌済みのため、そのまま培地に添加してご使用いただけます。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
再生医療等製品材料適格性確認書取得済みのサイトカイン溶液				
014-27621	Activin A Solution, Human, recombinant	細胞培養用	10 μ g	44,000
010-27623			50 μ g	154,000
195-19071	SCF Solution, Human, recombinant	細胞培養用	10 μ g	43,000
191-19073			50 μ g	160,000
116-01151	KGF Solution, Human, recombinant	細胞培養用	10 μ g	39,000
サイトカイン溶液				
062-06661	bFGF Solution, MF	細胞培養用	50 μ L	105,000
068-06663			50 μ L×4	341,300

高還元力・無臭の次世代還元剤!

Wako

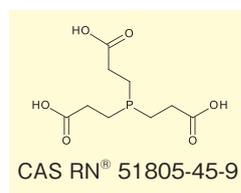
0.5mol/L TCEP 溶液, 中性

タンパク質のジスルフィド結合を切断するチオールフリーの還元剤です。従来の還元剤である2-メルカプトエタノールやジチオスレイトールよりも還元力が高く、無臭で、酸化されにくい次世代の還元剤です。タンパク質の変性を防ぐ中性に調整した使いやすい溶液タイプで、0.2 μ m フィルターろ過済みです。

この度、スクレアーゼ活性試験済みの分子生物学用グレードをラインアップしました。DNaseやRNaseの混入を気にせず使用できます。

特長

- 還元力が高い
- 無臭
- 広い範囲のpH条件下でも安定
- スクレアーゼ活性試験済み



使用例

SDS-PAGEの還元剤として使用される場合は、本品の終濃度が50mmol/Lとなるようにサンプルバッファーを調製して下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
208-21541	0.5mol/L TCEP Solution, Neutral pH	分子生物学用	1.5mL	10,000

その他の分子生物学用試薬も多数取揃えています。詳細は当社 HP をご覧下さい。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01632.html>

パーシー・ラヴォン・ジュリアン (1899.4.11 ~ 1975.4.19)

東邦大学名誉教授 中村 幹夫

1. はじめに

1973年4月24日、黒人の化学者であり実業家でもあるパーシー・ラヴォン・ジュリアン (Percy Lavon Julian) (図1) は、米国科学アカデミー事務局から予期せぬ電話を受けた。「開催中の科学アカデミー年会で、あなたがアカデミー会員に選出されました。おめでとうございます。」科学者にとって最高の榮譽の一つである米国科学アカデミーの会員に黒人化学者が選ばれた瞬間であった。しかし、ここに至るまでの道のりは決して平坦なものではなく、その成果は激しい人種差別の中で成し遂げられたものであった。ジュリアンの一生を辿った人は誰もが次のような共通の疑問を持つであろう。「もし人種差別のない社会であったら、彼はどれほどの業績を残し、私たちはどれほどの恩恵を受けただろうか。」

2. 生い立ち

パーシー・ラヴォン・ジュリアンは1899年4月11日にアメリカ・アラバマ州モンゴメリーで父ジェームズ・ザムナーと母エリザベス・レナとの間に長男として生まれた。ジュリアンの祖父は元奴隷であった。当時のアラバマ州では黒人の教育は8年間が普通であったが、父ジェームズはさらに2年間の教育を受け郵政公社の郵便配達人という安定した仕事に就くことができた。父は「黒人がこの社会で活躍するためには白人と同じ大学で教育を受けることが最も重要である」と考え、ジュリアンを何とか大学に進ませ医師にしたいと考えていた。南北戦争後のアメリカでは、いくつかの白人系大学が少数の黒人の入学を認めるようになっていた。幸いジュリアンはそのような大学の一つ、インディアナ州グリーンキャッスルにあるデポー大学に入学できた。1916年、大きな希望を胸に抱き、家族全員に見送られてモンゴメリー駅から列車に乗ったが、グリーン



図1. パーシー・ラヴォン・ジュリアン (1950年頃)

<https://digital.sciencehistory.org/works/nk322f063> (2023年5月30日閲覧)

キャッスルに到着すると程なく、自分が歓迎されていないことを知った。大学内の宿舍や食堂の使用が黒人には禁じられていたのである。幸い、フラタニティー (友愛会) のメンバーのおかげで、フラタニティーハウスにある食堂の給仕やボイラー管理の仕事を中心に地下室に住むことが許され、最低限の生活が保障された。ジュリアンにとって、もう一つの大きな悩みは学力であった。2年間の準備教育しか受け

ていなかったため、白人のクラスメートに比べ学力が圧倒的に不足していたのである。ジュリアンは近くの高校でリメディアル教育を受けながら大学の授業にも取り組んだ。すさまじい努力の結果、大学2年生になる頃にはクラスメートを凌ぐ学力を身につけた。彼は化学を担当していたブランチャード教授 (William Blanchard) から大きな影響を受け、将来は医師ではなくPh.D.を取得して大学教授になり、化学の研究を行おうと考えるようになった (図2)。卒業時には最優秀生徒に与えられる卒業生総代の榮譽を得た。また、名誉あるPhi Beta Kappa (成績優秀な大学生の友愛会) のメンバーに推薦された。

3. 学位取得を目指して

最優秀生徒として卒業したジュリアンではあったが、黒人であるため大学院での奨学金が得られずPh.D.取得の夢は絶たれた。ブランチャード教授は学位がなくても化学教師になれる黒人系大学への就職を勧めた。そこでジュリアンはテネシー州のフィスク大学で化学教育に携わった。勤めて2年後の1922年、ハーバード大学のオースチン奨学金を受けることができたので、マサチューセッツ州ケンブリッジに移った。ハーバード大学では著名な有機化学者コーラー教授 (Elmer P. Kohler)



図2. デポー大学科学クラブ員 (1918年)。最後列左がジュリアン、前列左から3人目が顧問のブランチャード教授 (文献3)

のもとで研究を行い、1年でMasterの学位を取得した。さらにPh.D.取得を目指したが、大学はジュリアンの学位取得を拒否した。おそらく「白人学生は黒人の大学院生からの指導を嫌がる」ことが理由ではないかとされている。

1926年、学位取得の夢を叶えられなかったジュリアンは失意のうちにケンブリッジを去り、ワシントンD.C.にある黒人系のハーワード大学で准教授の職に就いた。勤務して2年が経過したとき朗報がもたらされた。ロックフェラー財団へ申請していた奨学金が採択されたのである。ジュリアンはこの奨学金でオーストリアに行き、ウィーン大学で学位取得を目指すという大きな決断をした。1929年、ジュリアン30歳のときである。

ウィーン大学ではアルカロイドの研究で世界的に著名なシュベート教授(Ernst Späth)のもとでコリダリス・カバ(ケシ科の顕花植物)の根に含まれる成分の研究を行った。ここでは黒人に対する人種差別を全く受けなかったため、快適な研究生活を送ることができた。また、余暇を利用して友人たちとコンサート、ダンスパーティー、スキーなどアメリカでは想像すらできなかった生活を楽しんだ。研究は順調に進み、2年後には学位審査発表会が設けられた。ジュリアンは流ちょうなドイツ語で原稿を全く見ずにコリダリス・アルカロイドについて1時間講演し多数の聴衆を驚かせた。シュベート教授も「これほど優秀な学生には出会ったことが無い」と絶賛した。1931年、学位を目指してから11年目にして遂に念願のPh.D.を取得した。

4. フィゾスチグミンの全合成

1931年秋、帰国してハーワード大学に戻った。大学は学位を取得したジュリアンを正教授で化学科長とする破格の待遇で迎えたが、ほどなく学内トラブルに巻き込まれてしまった。ウィーン大学での楽しい生活を記した同僚への

手紙が悪意をもってアフロ・アメリカ新聞に投稿され、ジュリアンのみならず大学の評判も貶めたのである。そのため、理事会はジュリアンの解雇を決定せざるを得なかった。ハーワード大学を解雇され、行く先が無く途方に暮れていた時、学部長に昇進していたデポー大学のブランチャード教授が彼を研究職として採用してくれた。ハーワード大学での身分に比べれば大きな降格ではあったが、ジュリアンにとっては研究に集中できる職であった。早速、ウィーン大学時代の友人ピクル博士(Josef Pikel)をアメリカに呼び、カラバル豆に含まれ、緑内障の治療薬として用いられていたフィゾスチグミンの合成研究に取り掛かった(図3)。この研究は既にイギリスの著名な化学者ロビンソン教授(Robert Robinson)のグループが先行していたが、ジュリアンとピクルはより効率的な合成経路を考え、「インドールシリーズの研究」として米国化学会誌(JACS)に次々と論文を発表した。シリーズの第IV報では、ロビンソンらの報告したフィゾスチグミンの前駆物質*d,l*-エセトールは誤りであると主張し、続く第V報では自身の方法で合成した*d,l*-エセトールから2段階でフィゾスチグミンが得られることを示した。この成果によりジュリアンは36歳にして世界的に著名な化学者になった。

5. 大学から企業へ

フィゾスチグミンの全合成という輝かしい成果を挙げたジュリアンはデポー大学やミネソタ大学から教授職のオファーを受けた。しかし、いずれの大学でも黒人であるという理由で理事会からの承諾が得られなかった。そこで彼は大学で研究者になるという当初の夢を諦め、企業で働く決断をした。しかし最初に申請した全米最大の化学会社デュポンでは、一緒に申請した友人のピクルは採用されたがジュリアンは不採用であった。面接員から「あな

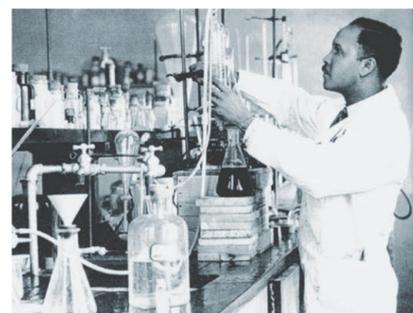


図3. デポー大学で実験中のジュリアン(1930年頃)(文献3)

たが黒人とは知らなかったのだ」と言われた。次に、ウィスコンシン州アップルトンにある製紙化学研究所に申請した。研究者としての採用がほぼ決定したが、会社のあるアップルトン市には「黒人は日没前に町を離れなければならない」という条例があったため、ここでの就職も断念せざるを得なかった。幸いこの研究所の理事で、シカゴにある大手塗料会社グリッデン社の副社長がジュリアンの経歴を高く評価し、グリッデン社への就職を勧めてくれた。グリッデン社は大豆製品研究所部門を創設し、ジュリアンをその研究所長に抜擢した。1930年代、黒人が大企業の社員になることも、ましてや研究所長になることも前例がなかった。

グリッデン社の社長がジュリアンに与えた最初の仕事は大豆からタンパク質を分離精製することであった。また、仕事を開始するにあたって、ジュリアンには開発に携わる技術者を採用する権限が与えられた。それによりいくつもの大学から黒人を含む精鋭が集められ、ジュリアンのもとに研究グループが結成された。ジュリアンのグループは1年で大豆からタンパク質を分離精製する方法を確立した。得られたタンパク質は水性ペイント、接着剤、紙の表面処理剤、卵白に代わるホイップクリームなど様々な製品の原料に使用され、会社に莫大な利益をもたらした。また、ガソリンや石油火災に極めて有効なエアロフォームと呼ばれる噴霧消火剤にも用いられた。この消

火剤は第二次世界大戦でアメリカ艦船に設置され数千人の軍人の命を火災から救った。

6. 性ホルモンの合成

大豆油からタンパク質を分離精製する仕事の過程で、グリッデン社におけるジュリアンの地位を危うくするような大事故が起きた。大量の純粋な大豆油に水が混入し、大豆油が使用不能になったのである。電話連絡を受けたジュリアンが駆けつけてプラントを見ると、巨大なタンク内は白色の細かな粒子で満ちており、タンクの底には白色の結晶が析出していた。ジュリアンはこの結晶がステロイドの一種、スチグマステロールであることを見出した。この事故の5年前、ドイツの化学者がスチグマステロールからプロゲステロンへの実験室での合成方法を発表していた。卵巣から分泌されるプロゲステロンは妊婦の流産や未熟児出産を防ぐ重要な女性ホルモンであるが、薬剤としては極めて高価であった。ジュリアンは大豆油から得られるスチグマステロールを原料に用い、ドイツ化学者の合成手法でプロゲステロンを大量に得る工業的方法を確立し、価格を大幅に下げることになった。同様に、スチグマステロールからテストステロンなど他の性ホルモンや多種のホルモン前駆体を合成し、塗料会社であるグリッデンを全米でも有数のファインケミカルの会社に成長させた。

7. コルチゾンの合成

リウマチは激痛を伴う難病で、当時、様々な治療法が試みられていたが、いずれも全く効果がなかった。1949年、副腎皮質ホルモンのコルチゾンがリウマチ患者に対して劇的な効果を発揮することがミネソタ州メイヨー・クリニックの医師らにより報告された。しかし動物から抽出されたコルチゾンは極めて高価で、薬剤としての使用は事実上不可能であった。ジュ

リアンは安価なコルチゾンを提供するためには植物ステロイドから合成することが重要であると考え、副腎皮質にあるコルチゾン前駆体のサブスタンスSを大豆油から大量合成した。というのも、この物質の11位の炭素に酸素が導入できればコルチゾンに変換できるからである。彼の予想は的中した。アップジョン社の研究者が酵素を用いて11位への酸素導入に成功し、コルチゾンの大量合成が可能になった。これによりコルチゾンをリウマチ患者の治療薬として用いることができるようになった。

1953年、ジュリアンはステロイドの研究を進展させるため17年間勤務したグリッデン社を退社し、新たな会社、ジュリアン研究所を設立し多数の黒人化学者を採用した。グアテマラ産ヤムイモを原料としたステロイド事業は順調に進み会社は大きな利益を得た。1961年、ジュリアンは会社を製薬大手のスミス、クライン、フレンチ社（現、グラクソ・スミスクライン、GSK）に大金で売却し、それにより全米で最も裕福な黒人の一人になった。その後もいくつかの製薬会社のコンサルタントとして活動するとともに、大学の支援事業、黒人の教育や居住に対する差別撤廃などの公民権運動にも尽力し、1975年4月19日に肝臓がんで76年の人生に幕を閉じた。

8. おわりに

すさまじい人種差別の中で化学者として、実業家として成功したジュリアンに対して数多くの栄誉が与えられた。1947年、NAACP（全米黒人地位向上協会）は多くの重要な発見とたくさんの人命を救った業績に対し、権威あるスピンガーン・メダルを授与した。1950年、シカゴ・サン・タイムズ誌はジュリアンをシカゴの「時の人」に選んだ。彼は19の大学から名誉学位の称号を受け、5つの大学では理事として大学の運営に携わった。没後の

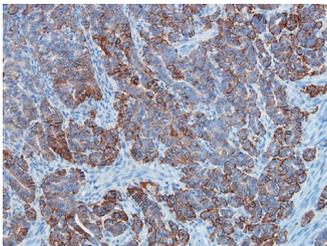


図4. 1993年に発行されたジュリアンの肖像を記した米国郵政公社の切手（文献2）

1990年、コルチゾンの合成で全米発明家殿堂入りを果たした。1993年、米国郵政公社はジュリアンの肖像画を記した郵便切手を発行した（図4）。さらに1999年、米国化学会はジュリアンによるフィズスチグミンの合成を「米国化学史における歴史的ランドマーク」に選んだ。もしジュリアンが人種差別のない社会で活躍出来ていたら……。彼は晩年のインタビューで次のように述べている。「私が住んでいるこの良き国は、人生のいくつかの重要な局面で私から機会を奪ってきたように思う。それでも私はその時々で得ることができた仕事に全力で取り組んだ。多分、私は良い化学者であったと思う。でも、私が夢に描いていた化学者ではなかった。」

【参考文献】

- 1) PBS NOVA S34E08, *Forgotten Genius*, https://www.youtube.com/watch?v=KSq_sdYNNk (2023年5月26日閲覧)
- 2) Seeman, J. I.: *PNAS*, **119**, 29 (2022). <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2208883119> (2023年5月26日閲覧)
- 3) <https://www.acs.org/education/whatischemistry/landmarks/julian.html> (2023年5月26日閲覧)
- 4) Späth, E. and Julian, P. L.: *Berichte*, **64**, 1131 (1931).
- 5) Julian, P. L. and Pikel, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 563 (1935).
- 6) Julian, P. L. and Pikel, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 755 (1935).



第38回 Wako ワークショップ



「シン・がん医療： 新技術に裏打ちされたがんの基礎と臨床」

日 時：2023年11月22日（水）10：00～17：00（終了時間は変更になる場合があります。）
会 場：秋葉原コンベンションホール（ウェビナーによるハイブリッド開催）
 〒101-0021 東京都千代田区外神田1-18-13 秋葉原ダイビル2F
オーガナイザー：佐谷 秀行 藤田医科大学 研究推進本部
 がん医療研究センター・橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長
主 催：富士フイルム和光純薬株式会社
定 員：秋葉原コンベンションホール 300名
 ウェビナーによる参加 1,000名
 （申込みは先着順で、定員になり次第、締め切らせていただきます。）
参 加 費：無料（事前登録制）
申 込 方 法：下記ホームページ「参加申込み」よりお申込み下さい。
U R L：https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/seminar/037969.html
お 問 合 せ 先：Wako ワークショップ係
 TEL：06-6203-1788 e-mail：ffwk-seminar@fujifilm.com

〈講演プログラム〉

- はじめに：【本日のオーバービュー】
佐谷 秀行（藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター・橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長）
- セクションⅠ：【新技術による血液・免疫系解析の進歩】
 - 「固形がんに対するCAR-T細胞療法の進展と将来展望」
玉田 耕治（山口大学大学院 医学系研究科 免疫学講座 教授）
 - 「血液研究が拓くがん研究の未来」
井上 大地（公益財団法人神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部 部長）
- セクションⅡ：【ゲノム解析の新展開】
 - 「リキッドバイオプシー最前線～最新技術から臨床実装まで～」
藤澤 孝夫（国立がん研究センター東病院 TR支援室/頭頸部内科）
 - 「ロングリードシーケンサーを用いた新たながんエピゲノム異常の解明」
永江 玄太（東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス&メディシン分野 社会連携部門 特任准教授）
- セクションⅢ：【難治性がんへの挑戦】
 - 「がんのフェロトシス回避機構と新規治療法の開発」
永野 修（藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター 教授）
 - 「がんのウイルス療法の臨床開発と実用化」
藤堂 具紀（東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 先端がん治療分野 教授）
- おわりに
佐谷 秀行（藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター・橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長）

☑…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☑…特定毒物 ☑I☑II☑III…毒物 ☑…劇物 ☑…毒薬 ☑…劇薬 ☑…危険物 ☑…向精神薬 ☑…特定麻薬向精神薬原料
 ☑I☑…化審法 第一種特定化学物質 ☑II☑…化審法 第二種特定化学物質 ☑…化学兵器禁止法 第一種指定物質 ☑…化学兵器禁止法 第二種指定物質 ☑…カルタヘナ法
 ☑…覚せい剤取締法 ☑…国民保護法
 掲載内容は、2023年10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。

【試薬】
 試験・研究の目的のみに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。
 試験研究用以外にご使用された場合、いかなる保証も致しかねます。試験研究用以外の用途や原料にご使用希望の場合、弊社営業部門にお問合せ下さい。
【医薬品原料】
 製造専用医薬品及び医薬品添加物などを医薬品等の製造原料として製造業者向けに販売しています。製造専用医薬品（製品名に製造専用の表示があるもの）のご購入には、確認書が必要です。

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。

<p>和光純薬時報 Vol. 91 No. 4 2023年10月15日発行 発行責任者 岡本訓明 編集責任者 小泉航 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</p> <p>●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</p>	<p>●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.</p> <p>■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</p> <p>■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</p>
--	--