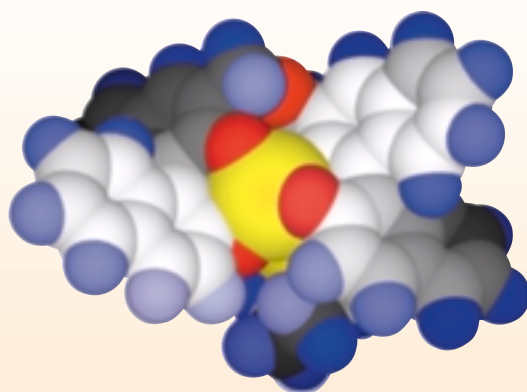


S体



R体

X-線結晶構造解析によるGa-Li-linked-BINOLの分子モデル

〔総説〕

「21世紀型有機合成化学」

柴崎正勝、松永茂樹2

「活性炭シリカゲル充填カラムを用いるダイオキシン類測定試料のクリーンアップ」 伊藤智博6

「DNAエキストラクターFMキットの評価」

瀬尾泰久8

<テクニカルレポート>

「八チミツ中の残留抗菌性薬剤のHPLC分析」

吉田貴三子5

<脳科学一口メモ>

「認知神経科学によりヒトの情動行動を読む」

野村理朗12

<Talking of LAL>

「第50話 エンドトキシン試験のアメリカ事情」

土谷正和14

ワークショップ見聞録

佐藤英介15

〔百年前の化学〕

「1903年の化学を顧みて」

芝 哲夫25

〔製品紹介〕

有機合成

新規不斉配位子リンクドバイノール ...4

Strem社 キラル試薬20

環境

Presep® 活性炭混合シリカゲル、活性炭埋蔵シリカゲル7

武田薬品工業(株)生活環境カンパニー

高感度BPA ELISAキット18

作業環境測定用2-プロモエタノール

標準品19

環境分析用17 エストラジオール-16,16,17-*d*₃

標準品19

クロマト

食品および食品添加物試験用

アセスルファム K 標準品19

動物医薬品試験用

レバミゾール塩酸塩標準品19

ダイセル化学工業(株)キラルパック®シリーズ、

キラルセルシリーズ20

薬品管理

オリエンタル技研工業(株)

STORAGE II13

(株)イシダ 薬品保管管理システム13

糖尿病

レジスチン、組換え体17

Acrp30, 球状ドメイン, 組換え体 ...17

食品中マイコトキシン検査キット

NEOGEN社 Agri-Screen® for Aflatoxin、

DON21

阻害剤

ジノフィシストキシン-122

2-フェニルエチル -D-チオガラクトシド...22

薬剤試験

0.5w/v%メチルセルロース溶液400cP、

滅菌済22

培養

25%イミノクタジン三酢酸塩溶液.....22

コージンバイオ(株)高密度培養用培地

KBM450 (ハイブリドーマ用).....23

病理

組織固定液マイルドホルム®シリーズ ...24

遺伝子

DNAエキストラクターFMキット11

RNAポリメラーゼ, 組換え体, 溶液...24

Amaxa社 Nucleofector™ ラット神経細胞用

キット28

はじめに

ここ数十年の有機合成化学の発展は目覚ましく、その成果は数多くの複雑な構造を有する天然物の全合成研究において華々しく開花している。しかしながら、有機合成の力量はまだまだ発展途上であり、21世紀における人類の持続的発展に対して貢献するべくよりいっそうの進歩を目指す必要がある。例えば、ヒトゲノムの解読に伴い今後医薬品およびリード化合物の開発がより論理的に、かつ迅速に開発されていくであろうが、ここにおいて実際の医薬品生産における有機合成プロセスの効率性、生産コスト、環境調和性、アトムエコノミーなどの要求に応えうるレベルでの研究が不可欠となる。その中で微量のキラル触媒から大量の化学的、光学的に純粋な生成物が得られる触媒的不斉合成はこの要請に対する一つの指針を与えている。2001年のノーベル化学賞が触媒的不斉水素化、触媒的不斉酸化反応に与えられたことから、触媒的不斉合成法がいかに基盤技術として定着し、実用化されてきたかがわかる。しかしながら、これらの反応は炭素-ヘテロ原子結合生成反応における不斉導入であり、有機分子の基本骨格である炭素骨格構築には別途反応工程が必要であることを意味する。プロセスの効率性を追求するうえでは不斉点の導入と炭素骨格の構築を同時に行う触媒的不斉炭素-炭素結合生成反応の実用化を指向した研究が今後の課題であろう。本稿ではこの分野における我々の最近の研究成果について紹介する。

新規不斉配位子linked-BINOLを活用した触媒的不斉反応の開発

我々はすでに新規不斉配位子linked-BINOL (図1: 2)の開発に成功し^{1),2)}、Ga-Li-linked-BINOL錯体 (図1: 3)による触媒的不斉エポキシド開環反応 (最高96% ee)¹⁾、La-linked-BINOL錯体 (図1: 4)によるマロン酸ジエステル

の触媒的不斉マイケル反応 (最高>99% ee)³⁾へと適用してきた。これらの反応においてはBINOL (図1: 1)そのものを不斉配位子として用いた場合には十分に満足する結果は得られず、2分子のBINOLユニットとリンカー上の酸素原子により構築される不斉空間が極めて重要な役割を果たしていることがX線結晶構造解析等から示唆されている。不斉配位子linked-BINOL 2のもつ特異な錯形成能のさらなる展開として、本新規不斉配位子を直接的触媒的不斉アルドール反応へと適用することとした。直接的触媒的不斉アルドール反応とは、触媒量の不斉塩基存在下に非修飾ケトンに直接活性化しアルデヒドとの反応を行うものであり、原子効率100%の触媒的不斉炭素-炭素結合生成反応である。近年精力的に研究がなされているが⁴⁾、いまだ触媒量、基質一般性、選択性等の点で問題点があり、実用レベルを目指した研究が強く求められている。

スクリーニングの結果、linked-BINOL 2 (1 mol %)とEt₂Zn (2 mol %)より調製した触媒系が有効であることがわかった。表1に示す通り本触媒系はヒドロキシケトン6のアルドール反応において良好な化学収率、不斉収率、ジアステレオ選択性にてsyn-1,2-ジオール7を与えた^{5),6)}。従来の触媒系と比較して大幅な触媒量の低減に成功している点が注目になるが、最近さらなる反応条件の

改良によりlinked-BINOLの量を0.1 mol %にまで減らしても反応が進行することも分かってきた⁷⁾。またEt₂Zn/linked-BINOL錯体のX線結晶構造解析からリンカー中の酸素原子が錯体形成において重要な役割を果たしていることも示唆された⁷⁾。この結果は、本アルドール反応においてもBINOL 1そのものを不斉配位子として使用した場合には良好な結果が得られないこととよく合致している。

また本触媒系はヒドロキシケトン6のマイケル反応にも有効であることもわかった。表2には-無置換エノンへの付加反応の例を示したが、linked-BINOL 2 (1 mol %)とEt₂Zn (2 mol %)の存在下、良好な不斉収率にて生成物9を与えた⁸⁾。さらに最近の検討により、触媒量の増量が必要ではあるが各種-置換エノンへの付加も良好な選択性にて進行すること、および、メチルビニルケトン8eへの付加反応においては反応条件の最適化によりlinked-BINOLの量を0.01 mol %にまで減らしても良好な結果が得られることも分かっている⁹⁾。

我々のグループではlinked-BINOL 2を不斉配位子として用いた錯体としてGa-Li,La,Zn不斉触媒を開発してきた^{1-3),5-9)}。これらの研究を通して、(1)すべての場合において2分子のBINOL 1から同様の手法で調製した金属錯体ではよい結果が得られないこと、(2)リンカーによりBINOLユニットが架橋されている

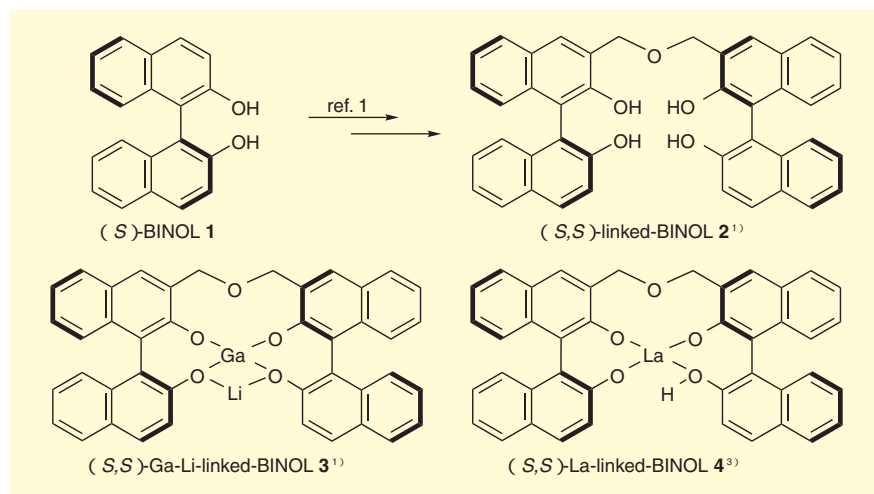
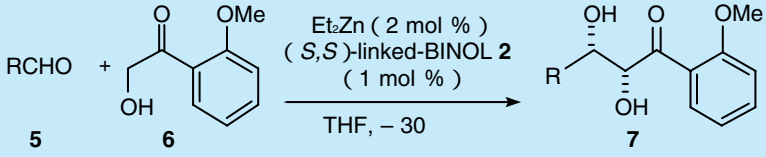


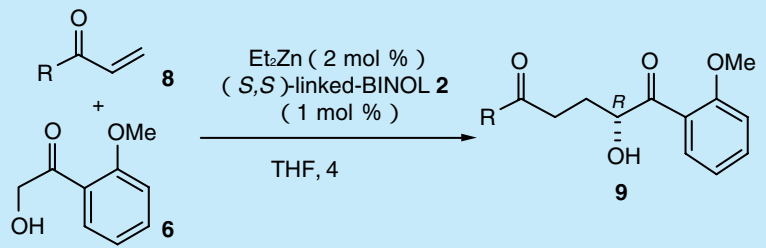
図1. 新規不斉配位子linked-BINOL 2およびlinked-BINOL錯体

表1. Et₂Zn/(S,S)-linked-BINOL錯体による直接的触媒的不斉アルドール反応



entry	aldehyde	time (h)	yield (%)	dr (syn/anti)	ee (syn/anti)	
1	Ph-CHO	5a	20	94	89/11	92/89
2	CH ₃ (CH ₂) ₄ CHO	5b	18	88	88/12	95/91
3	CH ₃ (CH ₂) ₅ CHO	5c	18	84	87/13	96/87
4	CH ₃ CH(CH ₃)CHO	5d	18	84	84/16	93/87
5	CH ₃ CH=CHCHO	5e	24	94	86/14	87/92
6	BnO-CH ₂ CHO	5f	18	81	86/14	95/90
7	BnO-CH ₂ CHO	5g	16	84	72/28	96/93
8	CH ₃ CH(CH ₃)CHO	5h	24	83	97/3	98/-
9	CH ₃ CH ₂ CH(CH ₃)CHO	5i	16	92	96/4	99/-
10	Cyclohexyl-CHO	5j	18	95	97/3	98/-

表2. Et₂Zn/(S,S)-linked-BINOL錯体による直接的触媒的不斉マイケル反応



entry	R	enone	time (h)	yield (%)	ee (%)
1	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄	8a	8	83	95
2	C ₆ H ₅	8b	4	86	93
3	<i>o</i> -MeOC ₆ H ₄	8c	12	90	94
4	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	8d	12	84	92
5	CH ₃	8e	4	86	93
6	CH ₃ CH ₂	8f	4	82	91

にもかかわらず、使用できる金属種のイオン半径に制限がないこと、(3)金属種ごとに得られた錯体の構造および会合状態はそれぞれ全く異なるものであることが分かってきた。すなわち、linked-

BINOL 2は単にBINOLを2分子含む不斉配位子ではなく、リンカー部分の適度な長さ柔軟性、および、リンカー中に配置された酸素原子の寄与により、様々なイオン半径を有する金属種に応じて特

異な不斉空間を創り出す能力を有する不斉配位子であるといえる。現在、各種linked-BINOL-金属錯体の調製と応用、ならびにリンカー部分の酸素原子を各種ヘテロ原子へと変換した新規linked-BINOL型不斉配位子の開発と評価⁷⁾にも取り組んでおり詳細についてはまた別の機会に紹介したい。

アキラル添加剤による触媒チューニングを基盤とした多段階促進型不斉触媒系の構築

ワンポットで多段階の反応を進行させる反応系は効率性の観点から理想的であり、実際に生合成経路においては多くの反応が連続的に進行している。では人工触媒を用いた場合にも生体中と同じような多段階反応系は構築できないのだろうか？ワンポットで多段階の反応を進行させる合成プロセスは、通常多段階合成において不可避である各反応工程における後処理や精製段階での膨大な時間、エネルギー、コストなどの問題点を克服するための有力な合成戦略となりうる。近年単一の金属触媒によるアキラルな多段階促進型の触媒反応が報告されるようになってきた¹⁰⁻¹²⁾、不斉反応に関しては二つの不斉触媒を組み合わせたものが知られているのみであった¹³⁾。これまで不斉触媒はある特定の反応のみを高立体選択的に進行させるべく設計、最適化されてきたため、多段階不斉反応を考えるうえで、各々の不斉反応において最適な不斉空間を単一の不斉触媒のみで提供することが困難であるとされてきたからである。

ごく最近、我々はアキラル添加剤による触媒チューニングによって単一の不斉触媒の不斉空間を適宜修飾することで上記問題点を克服しうることを見出し、多段階促進型不斉触媒系の開発に成功した¹⁴⁾。図2に示すY-Li-BINOL錯体((S)-YLB:10)は、ホスフィンオキシド11存在下においてアルデヒドの触媒的不斉シアン化反応に、11非存在下において触媒

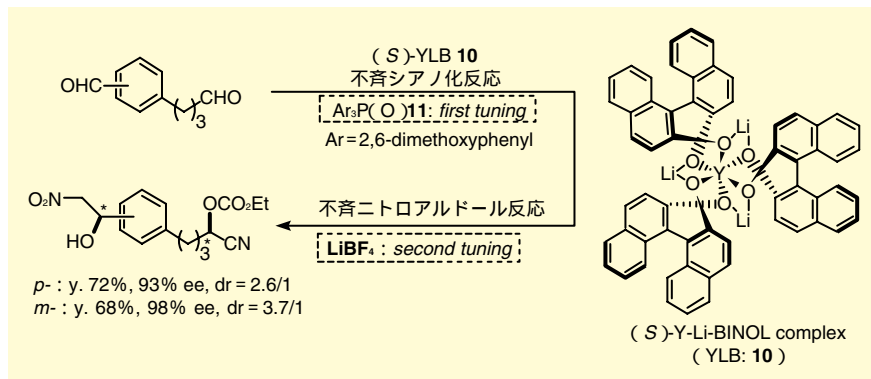


図2 (S)-Y-Li-BINOL錯体(YLB: 10)およびワンポット不斉シアノ化ニトロアルドール反応

的不斉ニトロアルドール反応にそれぞれ最適な不斉空間を与える。したがって、11存在下ではニトロアルドール反応の選択性が低く、二つの反応をワンポットで行うことはできなかった。種々検討の結果、アキラル添加剤としてLiBF₄を添加することで11存在下でもニトロアルドール反応の選択性が発現される不斉空間を構築できることがわかった。図2に示すように11存在下で触媒の不斉シアノ化反応を行い、次に触媒チューニングとしてLiBF₄を添加することで触媒の構造変化をおこし、最後にニトロアルドール反応を行うことで、それぞれの反応に最適な不斉環境を与える多段階促進型不斉触媒系の構築が可能となった。ここで添加剤LiBF₄は、リチウムカチオンとホスフィンオキシドの強い相互作用により11を触媒10から解離させ、触媒構造の変化に寄与していると推定している。これは低分子のエフェクター存在下で、酵素がアロステリックにその構造、機能、活性を変化させているのに類似しており興味深い。

もちろん以上のような研究成果がすぐに実用レベルにて適用できるわけではないが、単に化学収率と選択性だけに着目した反応開発にとどまっては何か大きな展開を見出せずに終わってしまう。実験室レベルでの合成から脱却し、これからの時代に強く望まれる、真に効率的で環境調和性の高い合成プロセスの構築を視野にいれた研究姿勢の重要性が増してくるのではないだろうか。

【参考文献】

- 1) Matsunaga, S., Das, J., Roels, J., Vogl, E. M., Yamamoto, N., Iida, T., Yamaguchi, K., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 225(2000)
- 2) Review: Matsunaga, S., Ohshima, T., Shibasaki, M.: *Adv. Synth. Catal.*, 344, 3 (2002)
- 3) Kim, Y.-S., Matsunaga, S., Das, J., Sekine, A., Ohshima, T., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 650(2000)
- 4) Review: Alcaide, B., Almendros, P.: *Eur. J. Org. Chem.*, 159(2002)

- 5) Kumagai, N., Matsunaga, S., Yoshikawa, N., Ohshima, T., Shibasaki, M.: *Org. Lett.*, 3, 153(2001)
- 6) Yoshikawa, N., Kumagai, N., Matsunaga, S., Moll, G., Ohshima, T., Suzuki, T., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 2466 (2001)
- 7) Kumagai, N., Matsunaga, S., Kinoshita, T., Harada, S., Okada, S., Sakamoto, S., Yamaguchi, K., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, in press.
- 8) Kumagai, N., Matsunaga, S., Shibasaki, M.: *Org. Lett.*, 3, 425(2001)
- 9) Harada, S., Kumagai, N., Kinoshita, T., Matsunaga, S., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, in press.
- 10) Yamasaki, S., Kanai, M., Shibasaki, M.: *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 105(2001)
- 11) Evans, P. A., Robinson, J. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 460(2001)
- 12) Louie, J., Bielawski, C. W., Grubbs, R. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 1131(2001)
- 13) Yu, H.-B., Hu, Q.-S., Pu, L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 650(2000)
- 14) Tian, J., Yamaguchi, N., Matsunaga, S., Shibasaki, M.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 363(2002)



多段階促進型触媒系

単一の触媒によってメカニズムの全く異なる二つ以上の反応をワンポットで行い、複雑な有機化合物を一挙に構築する触媒系。合成過程における効率的な連続反応のモデル系とみなすことができる。特に不斉触媒系の場合には各反応に対するキラル環境の最適化を考慮した触媒設計が必要となる。

Products

新規不斉配位子 linked-BINOL

Wako

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
155-02421	3, 3'-[Oxybis(methylene)]bis-(1 <i>R</i> , 1'' <i>R</i>)-(1, 1')-bis-2-naphthol [(<i>R,R</i>)-linked-BINOL]	有機合成用	200mg	25,000
152-02431	3, 3'-[Oxybis(methylene)]bis-(1 <i>S</i> , 1'' <i>S</i>)-(1, 1')-bis-2-naphthol [(<i>S,S</i>)-linked-BINOL]	有機合成用	200mg	25,000

ハチミツ中の残留抗菌性薬剤のHPLC分析

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 吉田 貴三子

近年、食品中の残留薬剤、特に輸入食品への残存が社会的な問題となっており、さまざまな測定法で食品検査が実施されている。ハチミツ、ローヤルゼリー、プロポリス等も中国、南米から輸入されており、輸入時に残留薬剤の検査が実施されている。先に、岡等はハチミツ中のテトラサイクリン系抗菌剤の分析を、前処理にシリカ系ODSとカチオン交換(-COOH)固相抽出カラムを用いHPLCで実施する方法を報告しているが¹⁾、今回この方法を参考にして、テトラサイクリン系抗菌剤(テトラサイクリン:TC、オキシテトラサイクリン:OTC、クロルテトラサイクリン:CTC)とクロラムフェニコール:CPを同時に前処理し、HPLCにて測定する方法を検討したので紹介する。

ハチミツ試料10gを使用、固相抽出カラムは、Presep®-RPP(200mg)(和光)

SPE-COOH(500mg)(J.T.Baker)、分析カラムはWakopak® Navi C18-5、4.6×150mmを使用し、固相抽出条件およびHPLC分析条件を検討した結果、各抗菌剤のハチミツ中濃度0.05ppmの検出が可能となった。その時の固相抽出方法を図.1に、TC、OTC、CTC、およびCPのHPLC分析例と分析条件を図.2、3に示し、ハチミツに標準品を添加した時の回収率を表.1に示した。

Presep®-RPPはODSと同様に逆相的な保持挙動を示す親水性ポリマーを充填したカラムであるが、高極性不純物を選択的に分離除去する効果が高く、シリカ系ODSカラムに比較して最小の溶出液量でTC類およびCPを溶出可能であった。引き続きSPE-COOHカラム処理は、TC、OTC、CTCを保持し、CPを素通りさせる効果があり、両者の分割と不純物の除去に有効に作用していた。ハチミツに標

準品を添加した時の回収率はTC類で85.6~96.4%、CPで77.9~80.5%と良好な結果を示し、検量線は1ng~500ngの注入範囲において良好な直線性を示した。

以上、Presep®-RPP(200mg)、SPE-COOH(500mg)およびWakopak® Navi C18-5、4.6×150mmを使用したハチミツ中の残留抗菌剤の簡便な分析方法を紹介したが、Presep®-RPP(200mg)の使用は溶出液量の削減に効果的であり、CPはCH₃OH/CH₃COOC₂H₅=10/90で溶出可能であるため簡単に濃縮でき、高感度分析に対応可能と考えられた。本分析例がハチミツ中の残留抗菌性薬剤の分析における簡便化の参考になればと考えている。

【参考文献】

- 1) Oka,H., Ikai,Y., Kawamura,N., Uno,K. and Yamada,M.: *J.Chromatography*, 400, 253 (1987)

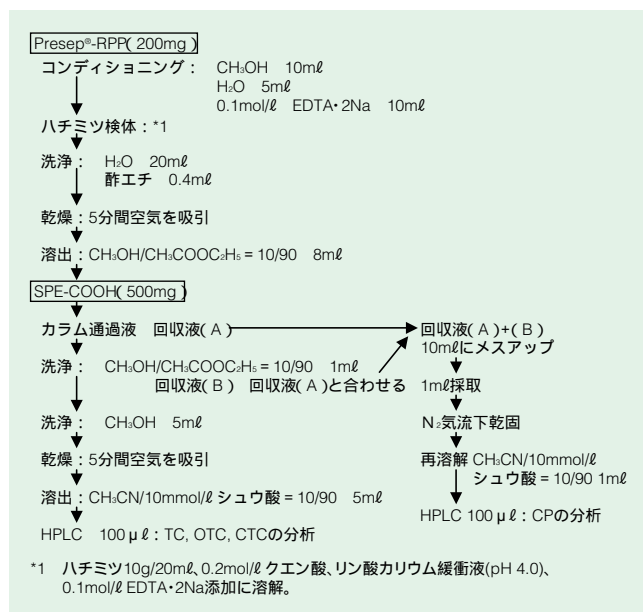


Fig.1 . 固相抽出条件

Table 1 . ハチミツへの標準添加回収率

添加量	回収率 (%) n = 4平均値	
	0.05 µg/g	0.5 µg/g
Oxytetracycline	85.6	90.1
Tetracycline	90.7	90.0
Chlortetracycline	94.7	96.4
添加量	0.25 µg/g	0.5 µg/g
Chloramphenicol	77.9	80.5

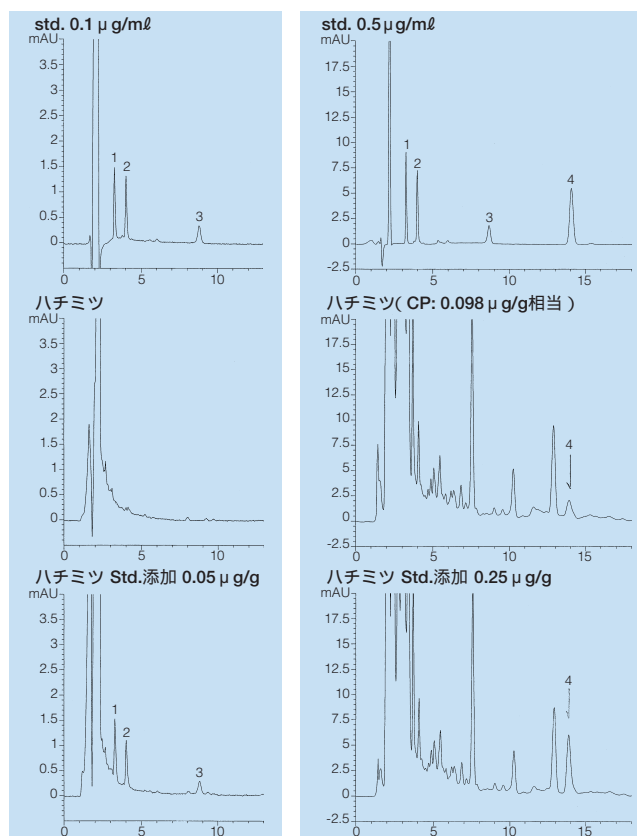


Fig.2 . Analysis of TC, OTC, CTC Fig.3 . Analysis of Chloramphenicol

HPLC conditions

Column : Wakopak® Navi C18-5, 4.6×150mm Injection vol. : 100 µl
 Eluent : CH₃CN/10mmol/l Oxalic acid = 20/80 (v/v) Sample : 1. Oxytetracycline
 Flow rate : 1.0ml/min. at 35 2. Tetracycline
 Detection : Tetracyclines UV 370nm 3. Chlortetracycline
 Chloramphenicol UV280nm 4. Chloramphenicol

活性炭シリカゲル充填カラムを用いるダイオキシン類測定試料のクリーンアップ

和光純薬工業株式会社 試薬研究所 伊藤 智博

ダイオキシン類（PCDD、PCDF、Co-PCB）は極めて毒性が高く、極微量で人体に障害をおよぼすことが懸念されている有機塩素系化合物である。そのために、各省庁から大気や土壌、底質、食品、血液などのダイオキシン類測定分析マニュアルが公表されるとともに、ごみ焼却施設の排出ガスや排水などの定期的なダイオキシン類測定の義務付けや濃度規制が行われている。

一般的にこれらダイオキシン類の環境中での存在レベルは、ppb～ppq（ 10^{-9} ～ 10^{-15} ）と極めて低く、ダイオキシン類を特異的に、高感度かつ高精度に測定するためには、他の共存成分を効率よく除去することが重要な要素となる。図-1に代表的なクリーンアップ操作概略を示したが、多層シリカゲルクロマトグラフィーは、試料に共存する色素類や農薬類、多環芳香族炭化水素（PAH）含イオウ化合物などの大部分の夾雑物の除去に、アルミナクロマトグラフィーは、前の工程で除去できなかった塩化ベンゼンや極性PCBなどの有機塩素化合物の除去に、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、

non-ortho Co-PCB以外のPCBとnon-ortho Co-PCBやダイオキシン（PCDDs/PCDFs）との分離を行なうために使用されている。

今回、ダイオキシン類分析の精度管理の向上とクリーンアップ法の簡易化への対応として、JIS K 0311、0312や他の標準測定分析マニュアルに準拠した活性炭埋蔵シリカゲルカラムと活性炭混合シリカゲルカラム（活性炭シリカゲル1gをガラス管に充填）を開発したので、その特長と両者の使い分けなどについて紹介する。

ダイオキシン類のブランク値

活性炭シリカゲルは保管条件や取扱雰囲気下において、微量のダイオキシン類やPCBなどにより汚染されてしまう可能性が高いため、JIS K 0311、0312などでは使用時にトルエンでの洗浄が記載されている。しかし、この操作は煩雑で時間も要するため、できる限り省略したい操作である。今回開発した活性炭シリカゲルカラムは、ダイオキシン類分析に妨害にならないレベルまで精製されており、

あらかじめ溶媒洗浄といった操作なしに使用できるよう設計されている。根拠データ例として、充填カラムにトルエンを通液した場合のダイオキシン類のブランク値を表1に示した。

分画性能

Co-PCB（di-ortho体2種、mono-ortho体8種、non-ortho体4種、計14種）と1,3,6,8-TCDF（最初に溶出するダイオキシン）、OCDD（最後に溶出するダイオキシン）の標準品を使用し分画試験を行なった。図2に活性炭埋蔵シリカゲルカラムの分画パターンを、図3に活性炭混合シリカゲルカラムの分画パターンを示す。なお、黒印がダイオキシン（PCDDs/PCDFs）、青印がnon-ortho Co-PCB、赤印がmono-ortho Co-PCB、緑印がdi-ortho Co-PCBである。

その結果、活性炭埋蔵シリカゲル、活性炭混合シリカゲルともに25%ジクロロメタン含有ヘキサンで4種類のnon-ortho Co-PCBや1,3,6,8-TCDF、OCDDは溶出せず、mono-ortho CoPCBが溶出した。

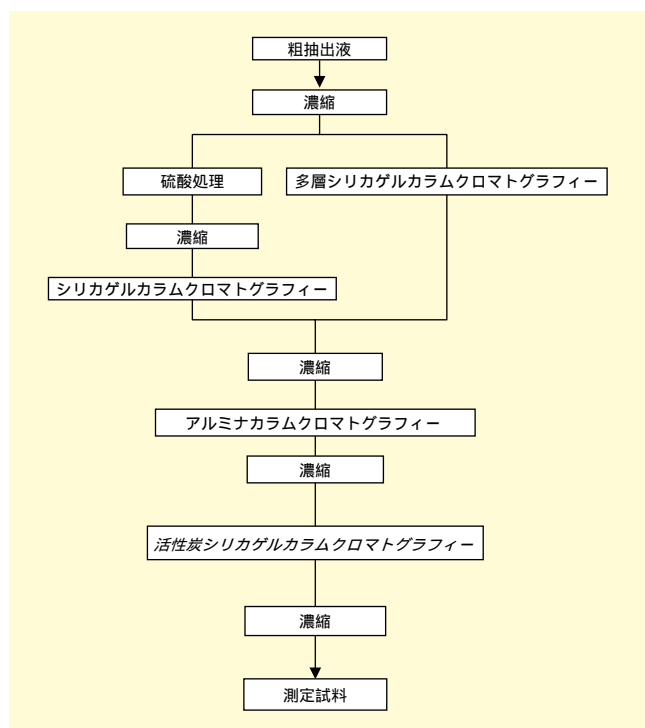


Fig.1. ダイオキシン類分析での代表的なクリーンアップ操作の概略

Table1. 活性炭シリカゲルのダイオキシン類の試薬ブランクの一例 (unit: pg/g)

ダイオキシン類	活性炭埋蔵シリカゲルカラム	活性炭混合シリカゲルカラム
T4CDDs	0.2 ↓	0.2 ↓
P5CDDs	0.2 ↓	0.2 ↓
H6CDDs	0.2 ↓	0.2 ↓
H7CDDs	0.5 ↓	0.5 ↓
O8CDD	2 ↓	2 ↓
T4CDFs	0.2 ↓	0.2 ↓
P5CDFs	0.2 ↓	0.2 ↓
H6CDFs	0.2 ↓	0.2 ↓
H7CDFs	0.5 ↓	0.5 ↓
OCDF	2 ↓	2 ↓
3, 4, 4', 5'-T4CB (#81)	1 ↓	1 ↓
3, 3', 4, 4'-T4CB (#77)	1 ↓	1 ↓
2, 3', 4, 4', 5'-P5CB (#118)	1 ↓	1 ↓
2, 3, 4, 4', 5'-P5CB (#114)	1 ↓	1 ↓
2, 3, 3', 4, 4'-P5CB (#105)	1 ↓	1 ↓
3, 3', 4, 4', 5'-P5CB (#126)	1 ↓	1 ↓
2', 3, 4, 4', 5'-P5CB (#123)	1 ↓	1 ↓
2, 3', 4, 4', 5', 5'-H6CB (#167)	1 ↓	1 ↓
2, 3, 3', 4, 4', 5'-H6CB (#156)	1 ↓	1 ↓
2, 3, 3', 4, 4', 5'-H6CB (#157)	1 ↓	1 ↓
3, 3', 4, 4', 5, 5'-H6CB (#169)	1 ↓	1 ↓

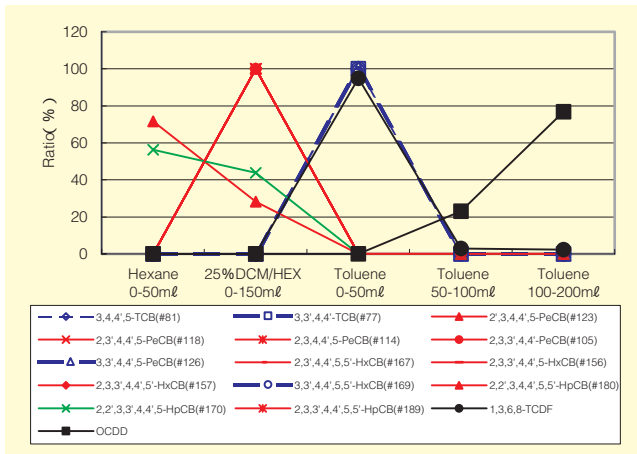


Fig.2. 活性炭埋蔵シリカゲルカラムの分画パターンの一例

(分画試験条件)

1. 活性炭埋蔵シリカゲルカラムの上層に負荷試料(ノタン溶液)をチャージする。
2. ガラス壁面を少量(200 μl, 3回)のヘキサンで洗浄後、15分~30分静置する。
3. 溶離液で溶出する。

(負荷試料)

- 1, 3, 6, 8 - TCDF, OCDD, 各5ng (50ng/ml, 0.1ml)
Co-PCB (14種) 各5ng (50ng/ml, 0.1ml)

あとの溶離液のトルエンでnon-ortho Co-PCBとダイオキシン(PCDDs/PCDFs)が溶出し、mono-ortho Co-PCBとnon-ortho Co-PCBやダイオキシン(PCDDs/PCDFs)との分離が可能であり、優れた分画性能を有していることがわかる。

以上、活性炭埋蔵シリカゲルカラム、活性炭混合シリカゲルともダイオキシン類のブランクが低いこと、優れた分画性能を有していることなどの特長がある。

さらに、活性炭埋蔵シリカゲルカラムは吸着容量が高いので、土壌、底質など夾雑成分を多く含む試料分析に最適である。一方、活性炭混合シリカゲルは、活性炭埋蔵シリカゲルに比べ吸着容量を低く設定しているので、環境水や血液、母乳などの夾雑成分が比較的少ない試料に有効であると考えられる。また、活性炭

混合シリカゲルカラムは、PCDDs/PCDFsを溶出させるためのトルエンの液量が少量ですみ、操作時間の短縮が可能であり、各々の測定試料の用途に合わせて使い分けしていただければ幸いです。

臭素化ダイオキシン分析への応用

最近、臭素化難燃剤(BERs)とその副生成物として生成する臭素化ダイオキシン類による環境汚染が懸念されている。そのために、厚生省や環境省から暫定調査方法が公表され環境中の実態調査が重要となってくる。

この分析において、上記の2種類の活性炭シリカゲルは臭素化ビフェニルエーテルと臭素化ダイオキシンの分離に有効であることが述べられており、臭素化ダ

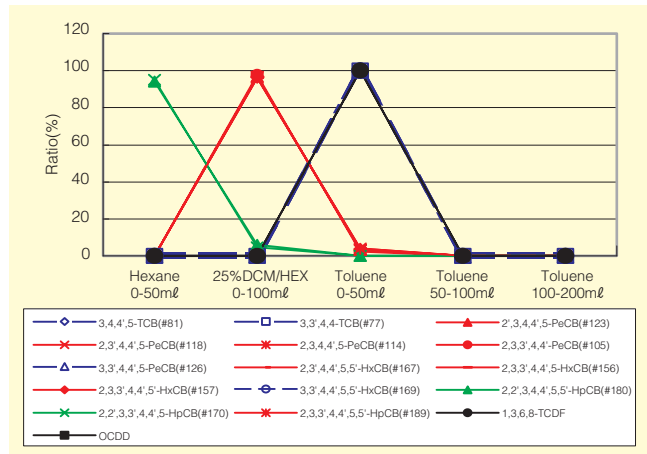


Fig.3. 活性炭混合シリカゲルカラムの分画パターンの一例

(分画試験条件)

1. 活性炭混合シリカゲルカラムの上層に負荷試料(ノタン溶液)をチャージする。
2. ガラス壁面を少量(200 μl, 3回)のヘキサンで洗浄後、15分~30分静置する。
3. 溶離液で溶出する。

(負荷試料)

- 1, 3, 6, 8 - TCDF, OCDD, 各5ng (50ng/ml, 0.1ml)
Co-PCB (14種) 各5ng (50ng/ml, 0.1ml)

イオキシン類分析へ応用が期待される。

【参考文献】

- (ダイオキシン分析測定マニュアル)
JIS K0311 “排ガス中のダイオキシン類およびコプラナーPCBの測定方法”(1999.9 通産省)
JIS K0312 “工場用水、工場排水中のダイオキシン類およびコプラナーPCBの測定方法”(1999.9 通産省)
ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル(2000.12.3 環境庁)など
- 1) J.W.Choi et al.: *Organohologen Compounds*, 52, 53(2001)
 - 2) T.Nakao et al.: *Organohologen Compounds*, 56, 34(2002)
 - 3) ポリプロモジベンゾパラ ジオキシンおよびポリプロモジベンゾフランの暫定調査方法(2002.10 環境省)

Products

ダイオキシン分析の前処理カラム!!

Wako

プレセップ®活性炭混合シリカゲル、活性炭埋蔵シリカゲル

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
299-41551	Presep® Active Carbon-blended Silica Gel	ダイオキシン類分析用	10個	照会
293-41451	Presep® Active Carbon-impregnated Silica Gel	ダイオキシン類分析用	10個	照会

はじめに

DNA鑑定の基本的な技術は、血痕や毛髪などの法医学的な資料からDNAを抽出した後、そのDNA上に存在する個人差のあるローカスをPCR法で増幅し、増幅産物の差（主に大きさの違い）を検出比較するというもので、鑑定の技術そのものについては既に完成の域に達している。ただしDNAの抽出法に関しては、若干の工夫・検討の余地が残っているように思われ、市販されているキットを使用するか、或いは、フェノール・クロロホルム法といった標準的な方法で行うかといった選択が、研究者個人の判断に委ねられてきた。筆者自身もこれまで様々な試みを行ってきたが、文献通りに調製した酵素反応液を用いても市販のキットを用いても完全に毛髪が溶解するに至らなかった事例、或いは、古い斑痕などでは一体どのくらいの時間プロテアーゼ処理をすれば十分にDNAを回収できるのかについて困惑した事例を経験している。そこで、この度、法医学的な用途を目的に開発されたDNAエキストラクターFMキットについて、多少の法医学的評価を加える機会を得ると共に法医学以外の応用例などについても検討したので、ここにその一端を紹介したい。

血痕からのDNA抽出

ここではDNAエキストラクターFMキットが本来目的とする微量血痕からのDNA抽出法に関して言及する。

まず、標準的な血痕のモデルとして1 μ lの血液を脱脂綿に滴下乾燥し、そのまま室温で1日、さらに3ヶ月間放置した。これらの試料から、DNAエキストラクターFMキットのプロトコールに従ってDNA抽出操作を行い、その際に1～16時間のプロテアーゼ処理を段階的に行って、抽出されるDNA量とA.260/280比にどのような変化が見られるのかを検討した。その結果、図1に示したように、インキュベーション開始から3時間でDNAの抽出量がプラトーに達し、A.260/280

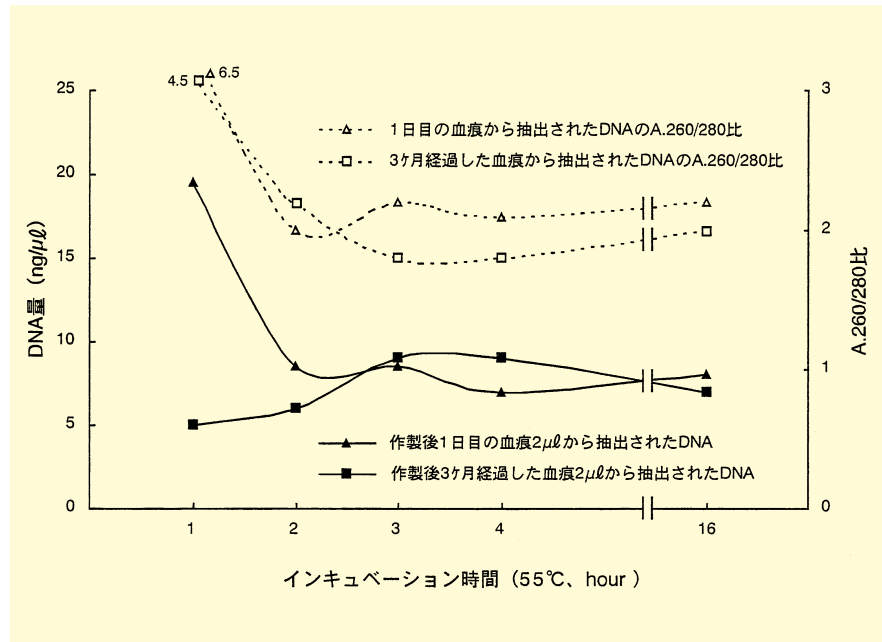


図1. 血痕からのDNA抽出に関するプロテアーゼ処理時間と抽出量との関係。

比は4時間のインキュベーションでほぼ安定化する。このことから、血痕からDNAを抽出する場合には、3～4時間のプロテアーゼ処理が必要であると判断される。また、3ヶ月経過した血痕から抽出されるDNA量と作製後1日しか経過していない血痕から抽出されるDNA量に、殆ど差がないことにも注目したい。ただし、様々な環境下に晒されている法医学的資料では、経時的にDNAの断片化が起こり、次第に高分子のDNAが失われて行くので、抽出されたDNAの質に関してはまた別の問題がある。これらのデータは、血痕以外の斑痕、唾液や汗などにも適応可能であり、このキットを使った斑痕からのDNA抽出では、プロテアーゼ処理の時間を3～4時間に設定するのが適当と思われる。さらに、このキットは、微量試料用に調整されていることから、1チューブ(200 μ lの溶解液)あたり5 μ l相当以上の血痕の処理は適当でなく、このような場合、1チューブあたりのスケールをアップするか、複数本による抽出を推奨したい。

また、病院などの各種検査機関で極少量の血液からDNAを抽出したい場合などは、一度ガーゼや濾紙等に血液を滴下乾燥させた後抽出操作を行えば、簡単に

検査に必要なDNAを得ることができる。

次いで、実験的に1～500倍希釈した血液を各1 μ l脱脂綿に滴下乾燥し、そのまま室温で2週間放置した血痕からのDNA抽出操作とDNA鑑定に必要な血痕量についての検討を行った。この場合、プロテアーゼ処理の時間を3時間とし、以降の操作は添付のプロトコール通りである。吸引乾燥した抽出DNAは25 μ lのTE緩衝液で溶解し、その5 μ lをABI社のヒトDNA定量キットQuantiBlot®の試料とした。その結果は、図2に示した通りで、20倍希釈した血液から抽出されたもので約0.3ng/5 μ l、総量で1.5ng程度のDNAが採取されていることが判る。文献的¹⁾にも経験的にも1ng程度のDNA量があればMultiplexのキットを使って1度に数種類のSTRタイピングが可能と思われるので、最低でも0.05 μ lの血液量があれば、個人識別が可能であると言える。

また、現在一部の機関で実施され、その検出感度と識別能力の高さから有用性が指摘されているミトコンドリアDNA高変異領域をシーケンス解析すると、500倍希釈(0.002 μ lの血液に相当)した血痕1 μ lからでも個人の識別が可能であった。

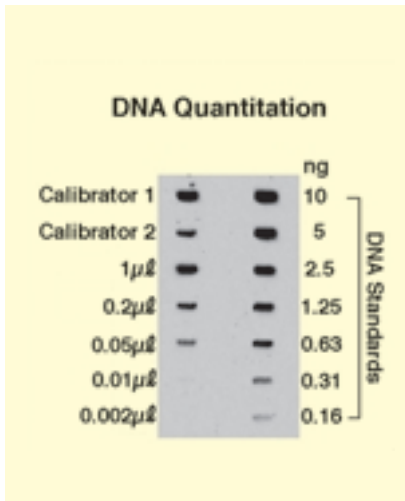


図2. 1~500倍希釈した血痕1 μ lから抽出されたDNAの定量結果。

毛髪や爪などの硬組織からのDNA抽出

毛髪からのDNA抽出に関しては、文献に記載されている溶解液や毛髪用のキットを使用しても、試料とする毛髪が完全溶解に至らなかった例を経験した方も少なからずおられるのではなからうか。しかしながら、DNAエキストラクターFMキットではそのような不安が全く解消されており、筆者が行った全例において、プロテアーゼ処理後20~50分以内に毛髪が完全溶解した。

まず、毛幹部からのDNA抽出に関する実験では、男女各3名の毛髪をそれぞれ0.5、1.0、1.5cmの長さに切断し、キットに付属する溶解液中で毛髪が完全に溶解するまでプロテアーゼ処理を行った。毛髪が完全に溶解した後は、添付のプロトコール通りに抽出操作を行い、最終的に30 μ lのTE溶液で抽出DNAを溶解した。その後、その2 μ lを鋳型として、ミトコンドリアDNA高変異領域(16159-16401番塩基間)のPCR増幅を試みた。尚、PCRの条件やプライマー配列に関しては、拙著を参照して頂きたい²⁾。その結果は、図3、上段に見られるとおり、女性3を除く全ての例で0.5cmの長さの毛幹部から約240bpの増幅産物が確認され、その後のシークエンス解析も可能で

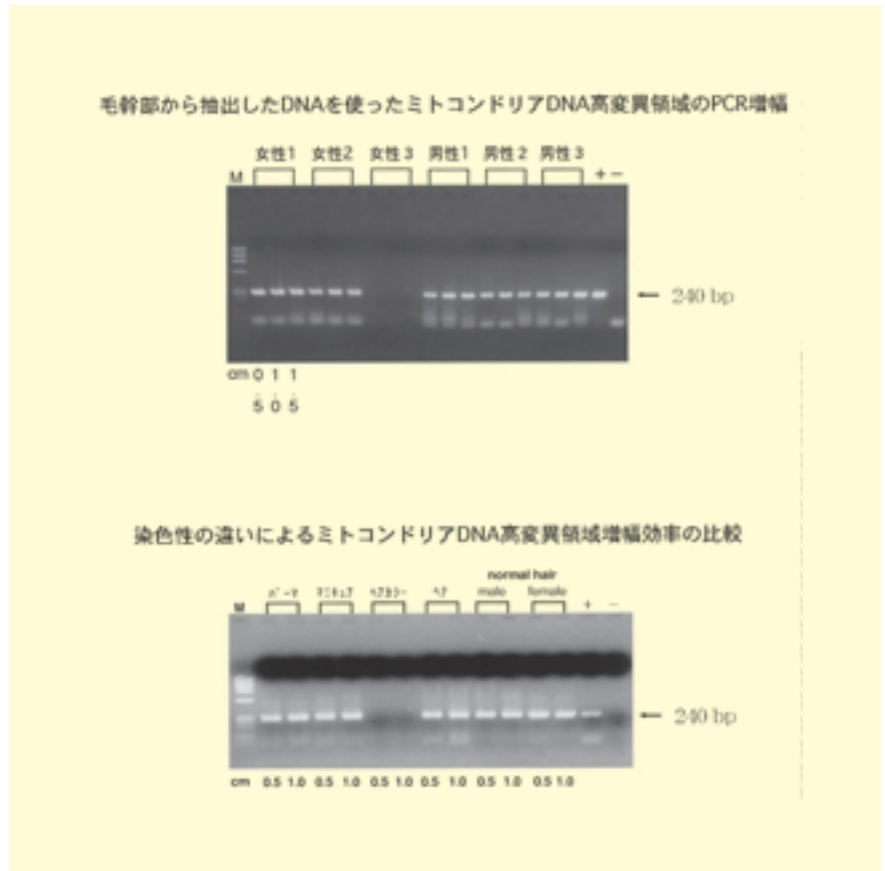


図3. 毛髪から抽出したDNAを使って行ったミトコンドリアDNA高変異領域のPCR増幅。

あることが確認された。

ところで増幅産物の確認されなかった女性3は、染色パーマネット毛であったことから、染色などの要素がPCRに影響を与えているのではないかと考え、次に、染色法の違いがPCRに与える影響についての検討を行った。図3の下段にその結果を示したが、ヘアカラーを施されたものだけにPCR増幅産物が確認されず、パーマやマニキュアなどの影響は認められなかった。なぜヘアカラーで染色された毛髪から抽出したDNAを使用した場合だけがPCR増幅されないのかの理由については明らかではないが、毛髪中のDNA自体が分解等の影響を受けているのか、染色剤にPCR阻害作用があるのかのいずれかと思われる。ちなみに、除蛋白を、キットに付属するNaIではなく、フェノールを使って行ってもヘアカラーで染色された毛髪ではPCR増幅が不可能である。さらに、毛髪からのDNA抽出法に関しては、フェノール法よりもNaI

法で行った方が、メラニンの除去などに適しているというデータもある³⁾。しかし、我々の経験からは、1チューブ(200 μ lの溶解液)あたり2cm以上の毛髪を処理すると、PCRが阻害されることがあり、比較的多くの試料を使用可能な場合などでは、複数での処理を行っておくことが肝要である。ただ、ミトコンドリアDNAの解析には1cm程度の長さの毛髪があれば十分に高変異領域全体の解析を基にした個人識別ができる。脱落毛や抜去毛などは、毛根部に細胞が付着した状態の毛髪からは、ゲノムDNAのSTR解析も可能である(図4、上段)。

爪を試料とした場合、オーバーナイトでプロテアーゼ処理しても、僅かな溶け残りが認められる場合があるが、1x2mm程度の爪が1片あれば分析に充分量のDNAが確保されるので、溶け残りは気にすることなく次の抽出操作に移って良い。1x2mm程度の爪から抽出されるDNA量は約1.5 μ gで、1x1mm程度5

片の爪からは、約 3 μg のDNAが抽出される。爪から抽出したDNAを試料としてゲノムDNAのSTRローカスをPCR増幅した結果を、図4の上段に示す。図4、下段には、ミトコンドリアDNA高変異領域 I と呼ばれる約400bpの範囲をPCR増幅した結果を示したが、爪や、毛根部の付着した毛髪から抽出されたDNAを試料とすると、一度に約400bpの高変異領域 I 全長をシーケンス解析することができる。一方、毛幹部を試料としたものでは、女性1の例に認められるとおり、必ずしも全長をPCR増幅できるとは限らないことから、微量な毛幹部を試料としてミトコンドリアDNA解析を行う場合には、240bp程度の範囲をオーバーラップして分析する方が²⁾、良い結果を得ることが多い。

このほか、骨などからは、5 mg程度の骨粉があればDNAの抽出は可能であり、この場合、爪からの抽出例を参考にすると良い。

口腔粘膜細胞からのDNA抽出

学生実習などでDNA分析実験を行う際には、身体的侵襲を軽減するために毛髪や、爪、耳垢等を試料とすることもあがるが、口腔粘膜の細胞を綿棒などを使って採取し、そこからDNAを抽出するのが最も一般的であると思われる。そこで、DNAエキストラクターFMキットを使った綿棒からのDNA抽出法について検討したので、参考にして頂きたい。

口腔内を良く拭いた綿棒を、200 μl の溶解液に浸し、10分～3時間プロテアーゼ処理を行った。図5に示した通り、一般的には、1時間プロテアーゼ処理を行えば、充分量のDNAが抽出できると判断して良い。綿棒から高い回収率でDNAを抽出するコツは、プラスチック製の柄でできている綿棒を選ぶことと、チューブに頭部を差し込んだ状態でプロテアーゼ処理を行うことである。この時、溶解液が蒸発しないようにパラフィルムで蓋をし、インキュベーション終了後に

綿棒を取り除く際、管壁に先を押しつけるなどしてできるだけ多くの溶解液(100～150 μl 程度)を回収する必要がある。

【参考文献】

- 1) Sparkes *et al*: *Int J Legal Med*, 109, 195-204 (1996)

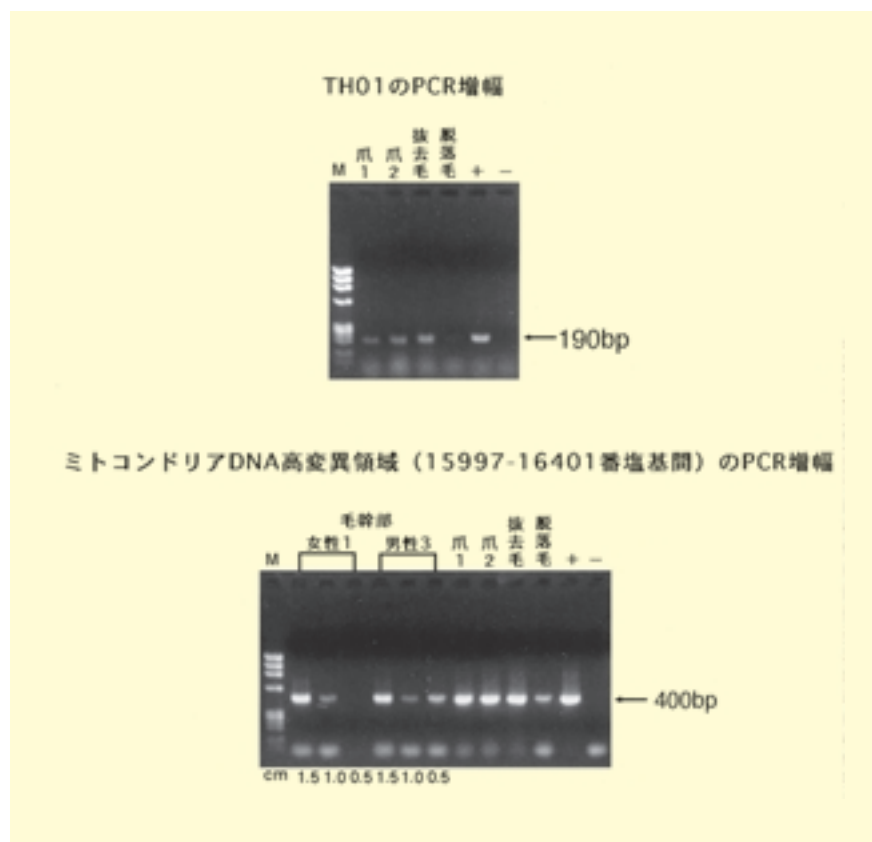


図4. 爪や毛根部の付着した毛髪から抽出したDNAのSTRローカスとミトコンドリアDNA高変異領域のPCR増幅。

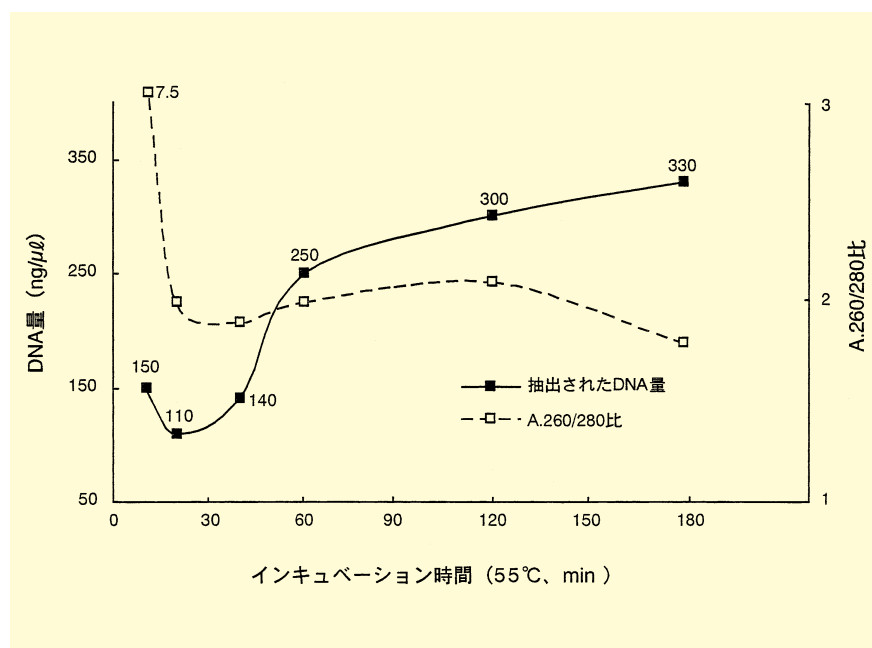


図5. 綿棒からのDNA抽出に関するプロテアーゼ処理時間と抽出量との関係。

2) Seo et al: Am J Forensic Med and Pathol, 20, 138-143(2000)

3) 高柳ら: DNA多型、Vol. 9, pp282-285 (東洋書店 1991)



DNA鑑定

DNA上にある個人差を示す部位を利用して、特定の個人を識別したり血縁関係を明らかにすること。主に犯罪の捜査に利用され、犯人の着衣に残された血液が被害者のものと一致するかなどを証明する。親子鑑定や同胞鑑定などにも利用される。

法医学的資料

犯罪に関連すると思われる全ての物的資料。例えば、殺人現場に残された凶器や血痕、山中で発見された歯や骨など様々なものがある。これらが人体由来のものか否か、ヒトのものであれば誰に由来するのかなどを検査する。他に、薬毒物の検査なども行われる。

STRタイピング

STRとは、Short Tandem Repeatの略で、DNAの非翻訳領域に存在する2～4塩基を一単位とする繰り返し配列のことである。この繰り返し数に個人差(多型)があり、PCR法と電気泳動法を組み合わせることで型判定を行う。この配列は、それぞれ両親から受け継ぐため1本(ホモ)ないし2本(ヘテロ)のバンドとして観察される。

STRローカス

多くの多型を示すローカスが報告されている。TH01と呼ばれるものは、11番染色体短腕にあり、繰り返し単位AATGの反復配列が5～11回続く。このほかにも、TPOXやvWAと呼ばれるものなどがある。数種類のローカスを組み合わせれば100%に近い確率で個人の同定が可能である。

のローカスを組み合わせれば100%に近い確率で個人の同定が可能である。

ミトコンドリア DNA

細胞内小器官であるミトコンドリア内にあるDNAで、母系遺伝をする。約1万6千塩基対の全配列が解読され、Dループと呼ばれる非翻訳領域の約1キロベース間(高変異領域及び)には多数の点突然変異が存在する。この変異が母系に受け継がれるため、シーケンス解析すれば個人を特定することができる。細胞内のコピー数が多いため微量な資料からでも検出が可能である。



Products

法医学研究用



DNA エキストラクターFMキット

本キットは法医学的な体毛や爪、血痕といった難溶解性の試料や、極く僅かなDNAを含有する検体を迅速に溶解し、かつ有害なフェノール/クロロホルムを使用せずに高回収率にDNAを抽出します。

特長

- 固相化抽出法を行わないため、担体への吸着などによる微量DNAのロスが生じない。
- 100%の回収率に近い「よう化ナトリウム法¹⁾」によりDNAを回収。
- 一連の操作に必要な試薬類をセット化。
- 有害な有機溶剤であるフェノール/クロロホルムを使用しない。
- 核酸増幅反応に適した試料が取得できる。



【参考文献】

1) Wang, L. et al.: Nucleic Acids Res, 22, 1774(1994)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
295-58501	DNA Extractor FM Kit	法医学研究用	50回用	18,000

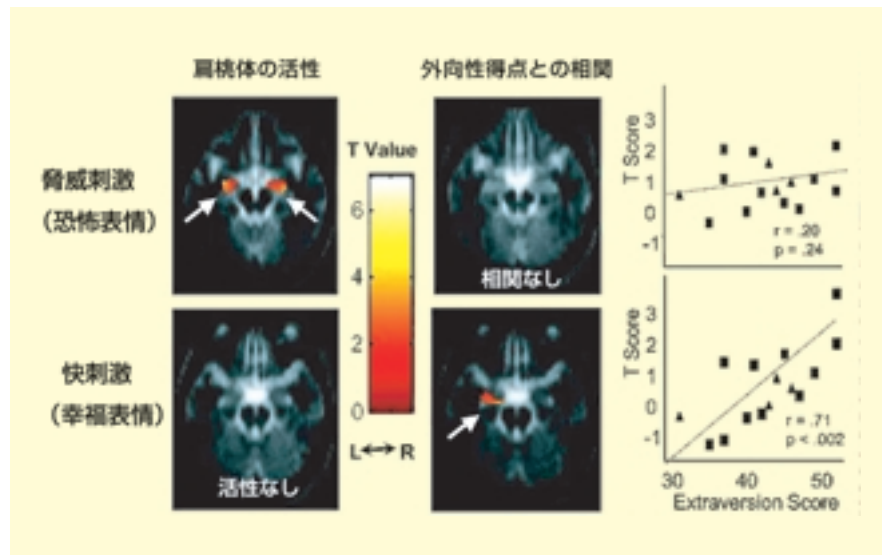
認知神経科学によりヒトの情動行動を読む

名古屋大学・大学院環境学研究科 野村 理朗

中枢神経系の構造と機能とを解明することをめざす認知神経科学は、神経科学、精神医学、心理学などから構成される学際的領域である。近年の認知神経科学の急速な発展の背景には、ヒトの高度精神機能(言語、記憶、情動、思考など)を実現する脳活動を可視化する(神経イメージング)技術が発達したことが挙げられる。たとえば、機能的核磁気共鳴装置(fMRI: functional magnetic resonance imaging)や陽電子断層撮像法(PET: positron emission tomography)といった神経イメージング技術は、認知神経科学の強力な実験手法としてその新たな地平を切り開きつつある。

fMRIの主流となる計測法はBOLD (blood oxygen level dependent)法である¹⁾。血液中には、酸化ヘモグロビンと脱酸化ヘモグロビンが存在するが、後者は、磁化率の高い物質であるため磁場を不均一にし磁気共鳴(MR)信号を減少させる。しかし、何らかの刺激により局所神経組織の活動が亢進されると、脳血流量は50%ほど増加することになる。実際に消費される酸素はその5%程度であり、酸化ヘモグロビンが脱酸化ヘモグロビンに対して相対的に増加した結果、プロトンのMR信号が増大する。このようにして、fMRIでは、神経活動の亢進代謝変化MR信号の増加といった一連の現象から、神経活動の増減を推定することができる。

ヒトの情動行動の基礎となる外部刺激の生物学的価値評価を担っているのは、大脳基底部の左右に位置する扁桃体(amygdala)である。この扁桃体による、恐怖表情のような脅威刺激への応答が、動物実験をはじめヒトの損傷脳研究²⁾や神経イメージング研究において指摘されている。この扁桃体は、気分障害との関連性が指摘されており、例えば、大うつ病性障害者においては左側の扁桃体が過活動することが明らかにされている³⁾。また、外向性といったヒトのpersonality特性と、快刺激(幸福表情)による扁桃体の活性値との正の相関が報告されている⁴⁾。この扁桃体は、逆に、脅威刺激に



図・左図：脳の横断面・各刺激に対する扁桃体の有意な活性 ($p < .005$, uncorrected) 中図：質問紙により得られた外向性得点と正の相関を示す扁桃体の活動 右図：各被験者の外向性得点および扁桃体の活性値のプロット図・快刺激に関して正の相関が得られていることがわかる。

【参考文献4】Canli et al. (2002) から著者が改変

対しては有意な活性を示すものの、その活性値と外向性得点との間に相関は得られていない(図)。すなわち、ヒトの外向性は扁桃体の快刺激への感受性により修飾されていることがわかる。

前述したとおり、大うつ病性障害などの気分障害は、扁桃体の活動と関連する一方、セロトニン・トランスポーター(5-HTT: 5-HT transporter)の遺伝子多型との関連も指摘されている。すなわち、5-HTTの対立遺伝子である短遺伝子(s)と長遺伝子(l)は、いずれも5-HTTの発現や機能を修飾し、同時に不安などのヒトの情動行動を調整するのである。具体的には、s遺伝子からの5-HTTの発現はl遺伝子のそれと比較して低く、また、s遺伝子が気分障害をひき起こす可能性はl遺伝子より高いとされる。この5-HTT遺伝子と扁桃体の活動との関連を検討した研究⁵⁾では、情動を喚起する課題を実施する間の脳血流変化をfMRIにより計測し、l優位群と比較して、s優位群における扁桃体の有意な血流上昇を見出している。ここで興味深いのは、扁桃体活動に影響した遺伝子多型が、課題の遂行成績には影響しなかった点にある。神経イメージングによりヒ

トの脳活動をオンラインで計測することで、行動レベルでは捉えられない遺伝子多型の個人差の影響について検討が可能となるのである。

さて、扁桃体とともにヒトの感情的処理を担う部位のひとつとして、前頭前野の腹側部に位置する眼窩野(orbito cortex)が挙げられる。この部位では、扁桃体との神経連絡のもと、行為に対する報酬や罰などの結果を統合した上で速やかに行為の価値が修正される⁶⁾。たとえば、眼窩野に損傷を受けた患者は、リスクが大きくても短期的な報酬が大きい選択肢に固執し続けるため、結果としては損をしてしまう。これに対し、健常者は得られた個々の結果から構成される中長期的展望にもとづき、より有効な解を見出しうるのである。この価値計算には、セロトニン(5-HT)が関与しており、その減少により、眼窩野損傷と同様に課題の遂行が損なわれることが指摘されている⁷⁾。これらのことから、いわゆる直感的な損得計算ともいえるヒトの意思決定は、5-HT機能により修飾される眼窩野の活動において、その一端が担われていることがわかる。

このように、ヒトの意思決定システム

に関する神経精神薬理学的研究の成果も著しいものがあるが、これとともに、最近のポストゲノムの時代における認知神経科学は目覚しく発展している。神経イメージングのような強力な実験手法や、行動遺伝学的アプローチも含めた複数領域からの包括的な研究により、今後は、創造性といったヒトの高次精神活動についても、検討の視野に入るものと思われる。

【参考文献】

- 1) Ogawa, S., Lee, T., Nayak, A.S. and Glynn, P.: *Magnetic Resonance in Medicine*, 14, 68-78 (1990)
- 2) Adolphs, R., Tranel, D., Damasio, H. and Damasio, A.: *Nature*, 372, 669-672 (1994)
- 3) Sheline, Y. I., Barch, D. M., Donnelly, J. M., Ollinger, J. M., Snyder, A. Z. and Mintun, M. A.: *Biol. Psychiatry*, 50, 651-658 (2001)
- 4) Canli, T., Sivers, H., Whitfield, S. L., Gotlib, I. H. and Gabrieli, J. D.: *Science*, 296, 2191 (2002)
- 5) Hariri, A.R., Mattay, V.S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D., Egan, M.F. and Weinberger, D.R.: *Science*, 297, 400-403 (2002)
- 6) Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A.R. and Lee, G.P.: *J. Neurosci.*, 19, 5473-5481 (1999)
- 7) Rogers, R.D., Everitt, B.J., Baldacchino, A., Blachshaw, A.J., Swanson, R., Wynne, K., Baker, N.B., Hunter, J., Casey, B.J., Booker, E., London, M., Deakin, J.F., Sahakian, B.J. and Robbins, T.W.: *Neuro. Psy. Pharmacol.*, 20, 322-333 (1999)

薬品保管管理システム

多様なニーズにお応えし、あなたにピッタリのシステムをご提案します。



一步先へ!! 次世代型薬品管理システム

インターネットへ完全対応

ASF(Active Server Pages)により、すべての操作をブラウザ上で行うことができます。スタンドアロンによる運用から、サーバクライアント管理まで、柔軟に低価格で対応することができます。

ISIS対応版
今春発売予定



STORAGE
型式: CMS-2000D

写真は、オプションの6連キーボックスを装着しています。画面ははめ込み合成です。

PRTR制度対応
(届出書印刷機能搭載)

PRTR排出量および移動量届出書の自動印刷が可能。印刷したい薬品名にチェックを入れ、印刷ボタンを押すだけの簡単操作です。薬品種類ごとに排出先と排出パターンを自由に設定することができます。

PRTR対象物質をはじめとした薬品のMSDSデータを搭載。また、作成したMSDSデータをシステムへ登録することも可能です。消防法対応(倍数計算機能搭載)

その他機能

- 指紋による個人認証+キーボックスによる鍵管理
- 使用状況の把握とデータ集計機能
- 重量管理と本数管理の同時管理
- 使用者レベルに応じた機能制限
- 薬品データベース搭載
- バイリンガル機能(日本語/英語)

「薬品管理システムSTORAGE」がホームページで体験できます

➡ <http://www.orientalgiken.co.jp>

毒・劇物の盗難防止に威力 - 保管管理の徹底が図れます -

セキュリティーカードによる
毒・劇物の管理がローコストで可能

構内LANへの接続も可能

ご使用のパソコンの表計算ソフトで、使用履歴や在庫状況に関するデータ処理が可能です。ご使用中の保管庫に電子錠の後付けによって、電子ロックシステムとしてお使いいただけます。管理者や使用者の立場になった簡単操作を実現しました。在庫量が即時に画面で確認できます。補充発注時期が即時に画面で判断できます。単純操作で、容器毎の一時持ち出し、返却がスムーズにできます。

PRTR制度
対応



型式: IM-7000



専用保管庫 兼 本体架台

URL <http://www.ishida.co.jp>

第50話 エンドトキシン試験のアメリカ事情

今、筆者はアメリカに来ています。そこで、今回はアメリカにおけるエンドトキシン試験について考えてみたいと思います。

アメリカにおけるエンドトキシン試験の手法に関する確かなデータはありませんが、最近では半分以上が比濁時間分析法や比色時間分析法といったカインティック法になっているそうです。もちろん、ゲル化法が重要な位置を占めていることには変わりありませんが、マイクロプレートリーダーを用いたカインティック法が普及してきているようです。

現在、アメリカにあるLALメーカーは、Associates of Cape Cod社、BioWhittaker社、Endosafe社、Haemachem社の4社です。各社の特徴を挙げると、Associates of Cape Cod社はゲル化法と試験管リーダーによる比濁時間分析法、BioWhittaker社はマイクロプレートリーダーを用いた比色時間分析法、Endosafe社はゲル化法とマイクロプレートリーダーを用いた比濁時間分析法、Haemachem社はゲル化法ということになると思います。Associates of Cape Cod社、BioWhittaker社、Endosafe社の3社がトップシェアを競い合っており、

各社とも自分たちがトップであると思っています。本当のところはわかりませんが、かなり均衡しているのかもしれませんが。以前はAssociates of Cape Cod社のシェアがトップでしたが、BioWhittaker社の合成基質法や、後発のEndosafe社に押されてきています。

アメリカの品質管理担当者の意識は、日本と少し違うように感じます。例を挙げてみましょう。LALのゲル化感度は表示感度近くのある範囲に納まるように製造されています。日本ですと、許容範囲内のより高い感度が好まれますが、アメリカでは逆に許容範囲内のより低い感度が好まれるそうです。これは、できるだけ感度が低いほうが、製品が合格と判定される確率が高い、言い換えれば、感度が高いと基準ぎりぎりの製品を不合格と判定しやすいからだそうです。日本では、同じ考えから、基準ぎりぎりの製品をしっかりと見つけ出して、危険をより少なくするという考えが主流のような気がします。どちらがよいかをはっきりと言うことは難しいと思いますが、アメリカ流の考え方は、「認められた許容範囲内のものは安全と考えることになっている

のだから、できるだけ合格率の高いほうがよい」ということなのでしょう。責任と権限の所在がはっきりして、YesとNoをはっきり言うアメリカらしい考え方もかもしれません。もちろん日本流の考えの方が安全性が高いと言えると思います。危険性を未然に発見して「KAIZEN」を行う、日本流品質管理の考え方だと思います。筆者の個人的な意見としては、工程検査は日本流、最終検査はアメリカ流にするのがよいと思うのですがいかがでしょうか。

ゲル化法の操作方法でも違いがあります。日本では、ピペッターが普及していることもあり、LALを反応試験管に分注した後、試料を加える方法が一般的と思われるのですが、アメリカでは、反応試験管に試料を分注した後、1mlのピペットで0.1mlのLALを連続的に加えるようです。この方法は、20年前からあまり変わっていません。この方法の利点は、反応の開始時間が試験管ごとであり異なるため、1つの試験管立てごとに反応を開始し、時間測定を開始、60分後にまとめて判定することができる点です。実際には、試験管立てに反応試験管を並べ、エンドトキシン希釈液、試料を分注（このとき、できるだけ底の方に液を入れます）LALを一気に添加して、試験管立てを横にがしゃがしゃと振って攪拌した後、インキュベーターにどぼんと放り込んで、時間の測定を始めます。アルミキャップなどはしません。60分後にまた一気にゲル化の判定をします。この方法は、恒温水槽とストップウォッチしかない施設では便利な方法です。問題点は、連続的にLALを分注するときに、ピペットの先が反応試験管の中の試料に触れて汚染する危険性が高いことです。また、トキシメーターのように定量性の高い方法には、連続分注ピペッターのように分注精度の高い器具を使う必要があります。

LALはアメリカで発見され、実用化されてきました。日本の技術は非常に優れているのですが、世界のスタンダードとなるには至っていません。今後、世界的な標準化が進んでいくにつれて、日本の技術の良いところもどんどん取り入れられていくことと思います。

今回は、第51話「トキシメーターの応用」の予定です。



ワークショップ見聞録

大阪市立大学大学院医学研究科 佐藤 英介

今回、平成14年11月19日（火）千里ライフサイエンスセンターホールで行われた第18回Wakoワークショップ「糖尿病におけるトランスレーショナルリサーチの展望」に参加しました。これまで何回かWakoワークショップに参加させていただきましたが、いずれも基礎的な話題が中心で、「アポトーシス」、「シグナル伝達」、「細胞周期」などを中心に勉強させていただきました。今回は初めて一つの疾患を中心とした臨床中心のワークショップであり、私のような基礎の研究者にとっては敷居が高い印象がありましたが、それはただの危惧にすぎませんでした。糖尿病研究における日本を代表する研究者がたの講演が続き、熱心な討論とともに演者と会場の参加者の糖尿病患者を救おうとする熱気が会場を包み込んでいました。ワークショップの発表順序もインスリンの分泌機構からはじまり、小胞体ストレスと糖尿病の発症、インスリンの作用機構、遺伝素因と糖尿病の発症、肥満と糖尿病、最後は血管に関する話題で締めくくっており、糖尿病発症とその治療について分子機構から遺伝素因、肥満そして血管へとつながって拝聴でき、糖尿病研究者でなくとも十二分に病気を体系的に理解できる大変聞き応えのあるワークショップでありました。これだけの研究者のかたがたをひとつの

ワークショップに会された世話人である神戸大学大学院医学研究科の春日先生および和光純薬の方々に感謝いたします。

ワークショップから少し時間も経ち記憶も薄れ気味ですが、それでも頭に残っている私が受けた刺激と、はじめて糖尿病のワークショップに参加したのとして感じたことについて、書きたいと思います。

私がこのワークショップで一番感じましたのは、いずれの仕事も遺伝子レベルまで解析され、それらを網羅的にとらえ、DNAチップ、SNPs、ノックアウトあるいはトランスジェニックマウスを駆使して研究が系統的に行われているということでありました。発表された先生がたはいずれも日本のメジャーな大学の花形研究者であり、逆に言えばこのような欧米型の研究ができれば学会で生きていけないような印象さえ受け、我々弱小グループの生き残る困難さも痛感させられました。そんな観点から、特に2つの研究発表には興奮を覚えました。その一つは東京大学の門脇先生の「遺伝素因と糖尿病の発症」という講演で、日本人のII型糖尿病の原因遺伝子を同定する試みとその治療への試みに関する講演でありました。そしてもう一つは、大阪大学の松澤先生の「肥満症の分子医学：アディポサイトカインの概念」という講演で、内臓

脂肪蓄積と糖尿病の発症の分子機構のうち脂肪細胞から分泌される遊離脂肪酸とグリセロール、さらには分泌される生理活性物質（アディポサイトカイン）の量的な多さと多彩な機能が病態発症に密接に係わるというホットな話題でありました。また、脂肪細胞から産生されるアディポサイトカインの概念を通じて糖尿病を炎症病態と考える方向性も打ち出されており大変興味深く拝聴いたしました。どちらの講演も、「これらの研究から糖尿病がどこまで明らかになりそれがどこまで治療できるのか？」と考えただけで、講演の途中からわくわくしてしまいました。門脇先生の講演では同定した遺伝子が、「実際の糖尿病治療にどれだけ効果があるものなのか？」すなわち日本の糖尿病患者の2割でみられる遺伝子異常がどれだけインパクトを持ちうるかといった問題が質疑応答されておりましたが、私は研究のすばらしさのみならず、%がどうであれ、それが今まさに苦しんでいる糖尿病患者のうち、すくなくともその%のかたを確実に治療することができることの方が重要であるという門脇先生の姿勢に感銘をうけました。

私は活性酸素の研究をしていることもあり、熊本大学の荒木先生の「小胞体ストレスと糖尿病の発症」という講演にも興味がありました。一酸化窒素（NO）



総合企画の春日 雅人 先生
(神戸大学大学院医学系研究科)



講演風景

を研究している研究者には、膵細胞がNOに高感受性であることはよく知られていることです。荒木先生はこの機構を糖尿病モデルマウスのAkitaマウスと小胞体ストレス依存性のアポトーシスに関するCHOPのノックアウトマウスとの交配により詳細に個体レベルで解析されており、ここでも炎症性の誘導酵素であるiNOSが膵細胞に発現することによりNOを産生して小胞体ストレス依存性にアポトーシスをおこすことから炎症と糖尿病を結びつけることができます。荒木先生はこれにとどまらずCHOPのノックアウトと交配させることでAkitaマウスの糖尿病発症を軽減できることを示し、異常なインスリンが小胞体ストレス依存性のアポトーシスを起こすこと、さらにはそれを特定の遺伝子を欠損させることで病態を改善できることを示されました。これらはI型糖尿病のモデルとして提唱されておりましたが、今後II型糖尿病との関与が興味を持たれるところであります。

順序がバラバラになりましたが、糖尿病のまさにkey分子であるインスリンの分泌の分子機構と糖尿病の発症そしてその作用機構について、最近のホットな話題について千葉大学の清野進先生、京都大学の清野裕先生そして今回のワークショップのオーガナイザーであります神戸大学の春日先生の講演を拝聴することができ、インスリンの代謝、シグナル伝達、糖尿病の発症について素人の私にも十分理解することができました。前述のごとく、先生がたの研究は遺伝子レベルまで解析され、それらを網羅的にとらえ、DNAチップ、SNPs、ノックアウトあるいはトランスジェニックマウスを駆使して研究を系統的に行われており感銘させられるばかりでした。

最後のセッションは血管を中心とした話題でした。糖尿病は合併症をともなう総合的な代謝病態であるという位置付けから、中でも血管合併症が病気の重篤さを示しています。金沢大学の山本先生は、糖尿病血管症の成因としてグリケーションに焦点をあてて研究され、特に終末糖化

産物 (advanced glycation endproducts, AGE) とその受容体について系統的な講演をされました。筑波大学の山田先生は糖尿病における血管のリスクを統計

的、疫学的データによって示しておられました。さらに薬剤の効果もあわせて示され現在の糖尿病における血管性病変の意義を講演されました。



清野 進先生



清野 裕先生



荒木 栄一先生



門脇 孝先生



松澤 佑次先生



山本 博先生



山田 信博先生

第18回 Wakoワークショップ

「糖尿病におけるトランスレーショナルリサーチの展望」

日 時：平成14年11月19日（火）10：00～17：00

場 所：千里ライフサイエンスセンター 5階ライフホール

総合企画：神戸大学大学院 医学系研究科 糖尿病代謝・消化器・腎臓内科

春日 雅人 教授

講演プログラム

開会挨拶

和光純 薬

はじめに

神戸大院・医 春日 雅人

インスリン分泌の分子機構

千葉大院・医 清野 進

インスリン分泌と糖尿病の発症

京都大院・医 清野 裕

小胞体ストレスと糖尿病の発症

熊本大・医 荒木 栄一

昼 食

インスリン作用機構と糖尿病の発症

神戸大院・医 春日 雅人

遺伝素因と糖尿病の発症

東京大院・医 門脇 孝

肥満と糖尿病の発症

大阪大院・医 松澤 佑次

コーヒーブレイク

糖尿病細小血管症の分子機構

金沢大院・医 山本 博

糖尿病大血管障害の分子機構

筑波大・医 山田 信博

おわりに

神戸大院・医 春日 雅人

閉会挨拶

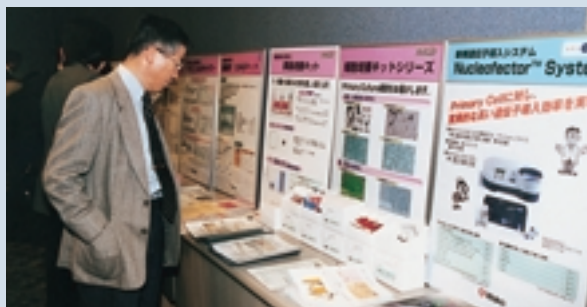
和光純 薬

糖尿病研究の初参加の私に本ワークショップが特に新鮮に映ったのは、研究対象の豊富さでした。それがすなわち糖尿病の複雑さを表していると感じさせられました。ただし、残念ながら期待して発表を見たものの、医学部出身でなく臨床経験もない不勉強の私には、完全にイメージできず、スライドを呆然とながめてしまう部分もありました。

ワークショップのコンセプトと各スピーカー、そしてなによりもその発表順序は非常に巧妙でありました。最後になりますが、楽しく、そして刺激的な時間を演出した下されたワークショップの準備・運営に携わられた方々に心から感謝いたします。



活発な質疑応答が行われた



当社製品展示風景

Products

インスリン抵抗性惹起分子

Resistin, recombinant

レジスチンは、脂肪細胞から分泌される二量体ホルモンで、インスリン抵抗性惹起物質（インスリンを効かなくする物質）として注目されています。インスリン抵抗性惹起物質としては、TNF- α や遊離脂肪酸が知られています。

血中のレジスチン濃度は、糖尿病薬の投与により減少し、肥満になると増加します。また肥満マウスにレジスチン中和物質を投与すると血糖値とインスリンの働きがよくなることがわかりました。これらにより、レジスチンが肥満と糖尿病を結び付けているのではないかと考えられています。

Human Resistin

形状：10mmol/l ぐえん酸ナトリウム(pH 3.0)からの凍結乾燥品(ろ過滅菌済み)

起源：Human resistin cDNA expressed in *E. coli*

分子量：19,500

エンドトキシン：< 0.1ng/μg (1 EU/μg)

Mouse Resistin

形状：20mmol/l Tris(pH 8.0)からの凍結乾燥品(ろ過滅菌済み)

起源：Mouse resistin cDNA expressed in *E. coli*

分子量：20,200

エンドトキシン：< 0.1ng/μg (1 EU/μg)

【参考文献】

1) Steppan, C.M. et al.: *Nature*, 409, 307(2001)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
187-01801	Resistin, Human, recombinant	生化学用	25 μg	39,000
184-01811	Resistin, Mouse, recombinant	生化学用	25 μg	39,000

インスリン抵抗性改善物質

Acrp30, globular domain, recombinant

Acrp30は、アディポネクチン¹⁾のマウスホモログです。アディポネクチン/Acrp30は、脂肪組織より分泌されるアディポサイトカインで、TNF- α やレプチンと異なり、肥満と共にその血中濃度が低下することが知られています。最近、糖尿病マウスへのアディポネクチン補充が、インスリン抵抗性を改善したとの報告がされました²⁾。

マウスAcrp30球状ドメインは、145アミノ酸からなる分子量16,000のAcrp30分解物³⁾です。Acrp30より強い活性をもちます。

形状：5 mmol/l Tris (pH 7.6) からの凍結乾燥品(ろ過滅菌済み)

起源：Mouse globular domain Acrp30 cDNA expressed in *E. coli*

エンドトキシン：< 0.1ng/μg (1 EU/μg)

溶解法：5 mmol/l Tris(pH 7.6)を用いて0.1~1.0mg/mlになるように溶解します。

【参考文献】

1) Maeda, K. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 221, 28(1996)

2) Yamauchi, T. et al.: *Nat. Med.*, 7, 94(2001)

3) Scherer, P.E. et al.: *J. Biol. Chem.*, 270, 2674(1995)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-19541	Acrp30, globular domain, Mouse, recombinant	生化学用	25 μg	39,000

タケダ環境汚染診断薬 武田薬品工業株式会社 生活環境カンパニー

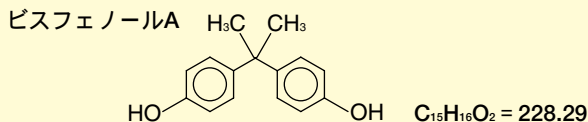
高感度BPA ELISAキット

特長

定量範囲は0.05-10 µg/l (ppb) と高感度である。
 環境水中のBPAを特異的に検出できる。
 モノクローナル抗体を使用しているため、製造ロット間で抗体性能にばらつきがない。
 測定値のCV (変動係数) は10%以下と高精度である。
 試料の調製から定量まで2.5時間で測定が完了する。
 簡単な操作で多検体を同時に処理できるため、経済的である。
 当社従来品と良好な相関性がある。

BPAとは

ビスフェノールA (BPA) はポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料、缶詰のコーティング剤などに用いられており、国内で年間約39万トン¹⁾生産されています。最近ではBPAの内分泌攪乱作用が示唆されており、水環境や生態系への影響が懸念されています。



1) 14102の化学商品：化学工業日報社 (2002)

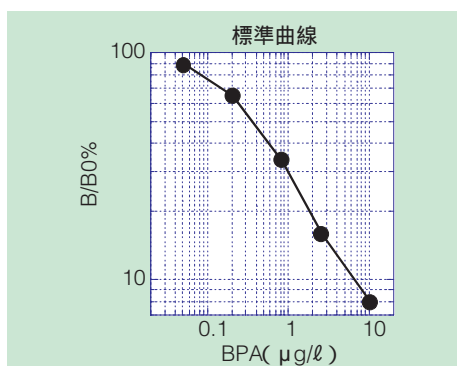
(参考) BPAの測定法

旧環境庁作成の「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」には、環境試料中のBPA測定法としてGC/MS法が採用されています。GC/MS法は煩雑な抽出・クリーンアップ操作が含まれるほか、分析に高価な機器を必要とします。

BPA測定用標準曲線

定量範囲は0.05 ~ 10 µg/lで、濃縮 (固相抽出) によりさらに低濃度の試料も測定できます。また、試料によっては、希釈することにより、バックグラウンドに含まれる過剰量の要因を低減することができます。

測定値のCV (変動係数) は10%以下で、測定のばらつきが少なく、高精度です。



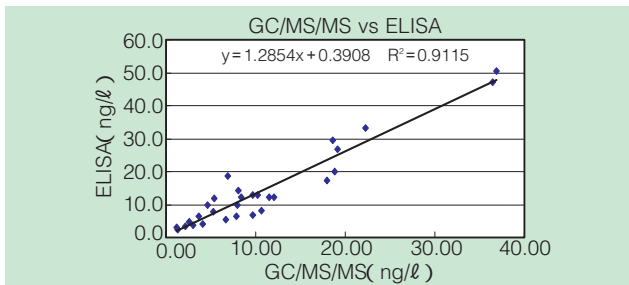
試料の前処理方法

試料中のBPA濃度が定量下限以下の場合、濃縮が必要になります。

「環境庁暫定マニュアル」(1998) や「下水試験方法 (追補暫定版)」(2002) などに、固相抽出およびジクロロメタンなどの溶媒による溶出による濃縮法が記載されています。方法の詳細については、当社までお問合せ下さい。

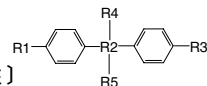
機器分析との比較

ELISA法は従来法 (GC/MS/MS) と高い相関があります。



国立環境研究所 特別研究報告書 (2002)
 白石寛明 他：第5回環境ホルモン学会 (2002)

抗BPA抗体の交差反応性



(ビスフェノールA類縁体に対する交差反応性)

名称	R1	R2	R3	R4	R5	CR (%)
Bisphenol A【BPA】	OH	C	OH	CH ₃	CH ₃	100
Bisphenol B【BPB】	OH	C	OH	CH ₃	C ₂ H ₅	15.6
Bisphenol E【BPE】	OH	C	OH	H	CH ₃	6.0
Bisphenol S【BPS】	OH	SO ₂	OH	-	-	0.2
BPA Dimethacrylate		C		CH ₃	CH ₃	0.7
BPA Diglycidyl Ether		C		CH ₃	CH ₃	<0.1
BPA Diacetate	OOCCH ₃	C	OOCCH ₃	CH ₃	CH ₃	0.2
Bis(p-hydroxyphenyl)methane	OH	C	OH	H	H	1.8
1,2-Bis(4-hydroxyphenyl)2-propanol	OH	CH ₂ C	OH	OH	CH ₃	0.4
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)1-propanol	OH	C	OH	CH ₃	CH ₂ OH	1.7
Bis[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]sulfone	O(CH ₂) ₂ OH	SO ₂	O(CH ₂) ₂ OH	-	-	<0.1
BPX-33		C		CH ₃	CH ₃	<0.1
4,4'-Bis(p-hydroxyphenyl)pentanoic acid	OH	C	OH	CH ₃	C ₂ H ₄ COOH	<0.1
p,p'-dihydroxybenzophenone	OH	C	OH	-	O	<0.1
4,4'-dihydroxydiphenyl ether	OH	O	OH	-	-	0.2

(内分泌攪乱作用が疑われる化合物や界面活性剤、フミン物質に対する交差反応性)

Category	Compounds	CR (%)
Endocrine Disruptors	Bisphenol A【BPA】	100
	Diethylhexylphthalate【DEHP】	<0.05
	Nonylphenol【NP】	0.19
Estrogen	17-estradiol【E2】	<0.05
	Estrone【E1】	<0.05
Surfactant	linear-Alkylbenzene sulphonate【LAS】	<0.05
	Alkylphenolethoxylate【APE】	<0.05
	Alkylethoxylate【AE】	<0.05
Fumic Substance	Fumic acid Na	<0.05

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
304-13161	92382	Supersensitive BPA ELISA Kit (Microplate)	1キット (96回用)	75,000

) 生体試料については測定プロトコル他が異なる可能性がありますので、別途ご連絡下さい。

作業環境測定用



2-プロモエタノール標準品

平成13年3月28日 労働安全衛生法の一部が改訂され、労働安全衛生法施行令別表第三第二号の第二類物質にエチレンオキシドが追加されました。

これに伴い、特定化学物質等障害予防規則、作業環境測定基準、作業環境評価基準の一部も改訂され、平成14年5月1日からエチレンオキシドの作業環境測定が義務付けられました。

本品は、作業環境中のエチレンオキシド測定時の標準品として使用されます。

含量(GC/FID): 98.0%以上

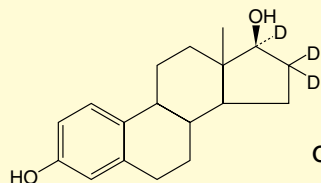
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
024-14851	2-Bromoethanol Standard	作業環境測定用	500mg	5,000

環境分析用



17 エストラジオール-16, 16, 17- d_3 標準品

環境ホルモンの一つと言われている、エストラジオールをGC/MS分析する際のサロゲート物質として使用されます。主に、抱合体分解を行って測定する場合に使われます。



規格

外観: 白色結晶性粉末 ~ 粉末

m.p.: 178.0

含量(GC/MS): 98.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
054-06941	17 -Estradiol-16,16,17- d_3 Standard	環境分析用	50mg	40,000

関連商品

コードNo.	品名	規格 (メーカーコード)	容量	希望納入価格(円)
522-31061	-Estradiol(2,4,16,16-D ₄ ,99%)	(DLM-2487)	5mg	93,100
051-06451	17 -Estradiol	生化学用	100mg	6,000
057-06453			500mg	24,000
055-06454			1g	39,000
056-04044			250mg	1,900
052-04041	-Estradiol	生化学用	1g	3,500
058-04043			5g	10,500
051-04131	-Estradiol 3-Benzate	生化学用	1g	3,300
057-04133			5g	11,000

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
056-05301	Estriol	生化学用	250mg	2,900
052-05303			1g	8,100
055-05011	Ethinylestradiol	生化学用	1g	4,400
051-05013			5g	15,400
508-97621	2-Methoxyestradiol	(454180)	10mg	10,600
137-10191	Mestranol	生化学用	1g	3,100
133-10193			5g	10,500
135-10192			25g	36,000

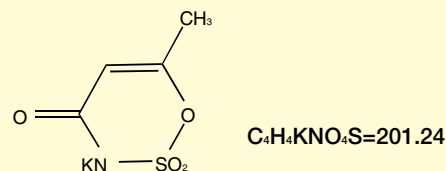
* ELISAキットにつきましては、別途お問合せ下さい。*

食品および食品添加物試験用試薬品目追加



アセスルファミンK標準品

アセスルファミンカリウムは食品添加物としてすでに登録されていますが、平成13年12月28日付け食基発第58号でHPLC分析方法が設定されました。本品は、HPLCでの含量を保証していますので高速液体クロマトグラフ標準品としてお使いいただけます。



外観: 白色結晶 ~ 結晶性粉末

化学名: 6-Methyl-1,2,3-oxathiazin-4(3H)-one-2,2-dioxide Potassium Salt

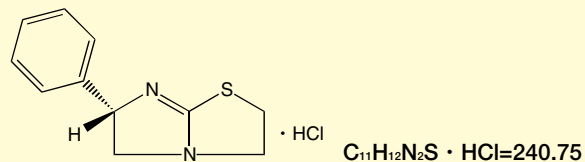
含量(HPLC): 99.0%以上

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
019-19481	Acesulfame K Standard	高速液体 クロマトグラフ用	500mg	5,000

動物医薬品試験用標準品品目追加



レバミゾール塩酸塩標準品



外観: 白色粉末

化学名: (-)-2,3,5,6-Tetrahydro-6-phenylimidazo[2,1-b]thiazole Hydrochloride

含量(HPLC): 99.0%以上

残留基準: 0.01ppm

備考: 寄生虫駆除剤

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
126-04991	Levamisole Hydrochloride Standard	高速液体 クロマトグラフ用	200mg	7,000

CHIRALPAK® Hシリーズ CHIRALCEL® Hシリーズ

ダイセル化学工業(株)では、これまで20種類以上の光学異性体分離用HPLCカラムを開発、販売しています。その中でも、ワールドワイドに最も多く使われているCHIRALPAK® AD、AS(アミロース系)とCHIRALCEL® OD、OJ(セルロース系)の高性能型カラムの品揃えを図り、この度順相系「Hシリーズ」および逆相系「RHシリーズ」としてラインアップが揃いました。これら8種類のカラムで約8割以上のキラル化合物が分離可能となります。

5µm充てん剤を用いた「H」、「RH」シリーズは、従来の10µm充てん剤に比べて高理論段数であり、化合物の光学異性体分析に有利です。カラム保護のためには経済的で使い易いカートリッジタイプのガードカラムを合わせてお使い下さい。

また、分析用カラムに加えて、「Hシリーズ」のセミ分取カラム(内径1cm、2cm)も用意しました。従来タイプのセミ分取カラムと比較して、より高純度な分取が可能で、しかも従来タイプと同価格です。

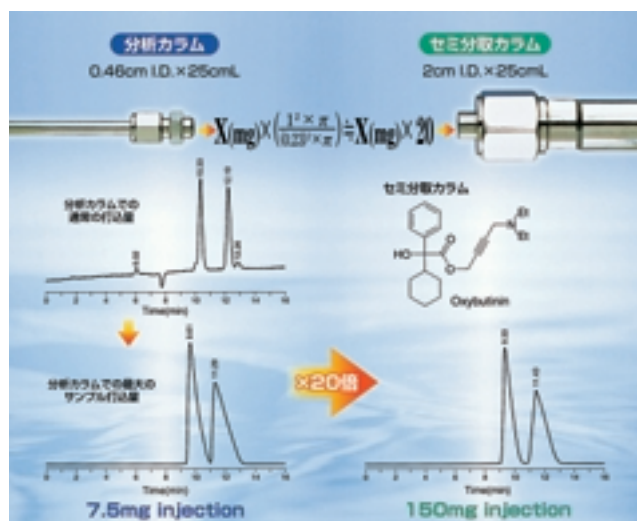
特長

光学異性体の8割以上に対応可能である。

5µm充てん剤を使用しており、従来の10µm充てん剤に比べ高性能である。

セミ分取カラムは分析用カラムと同じ充てん剤を使用しているのでスケールアップが容易である。

ガードカラムが使い易いカートリッジタイプである。



分析カラム

希望納入価格
コードNo.

サイズ	充てん剤名	順相系			
		CHIRALPAK®		CHIRALCEL®	
		AD-H	AS-H	OD-H	OJ-H
0.46cm ×15cm	305-08522	150,000円	150,000円	150,000円	150,000円
		302-08532	304-08092	308-08512	
0.46cm ×25cm	307-08521	150,000円	150,000円	150,000円	150,000円
		304-08531	306-08091	300-08511	
0.40cm ×1cm ガードカラム (3本入/set)	309-08581	26,000円	26,000円	26,000円	26,000円
		306-08591	305-08561	302-08571	

サイズ	充てん剤名	逆相系			
		CHIRALPAK®		CHIRALCEL®	
		AD-RH	AS-RH	OD-RH	OJ-RH
0.46cm ×15cm	302-07971	165,000円	165,000円	165,000円	165,000円
		301-08541	308-07951	305-07961	
0.40cm ×1cm ガードカラム (3本入/set)	306-08231	26,000円	26,000円	26,000円	26,000円
		309-08601	302-08211	309-08221	

サイズ	充てん剤名	順相系		逆相系	
		CHIRALPAK®		CHIRALCEL®	
		AD-H	AS-H	OD-RH	OJ-RH
0.40cm ×1cm用 ガードカートリッジホルダー		12,000円			
		303-08241			

* ガードカラムをご使用いただくには各カラム共通のガードカートリッジホルダーが必要です。

希望納入価格
コードNo.

セミ分取カラム

サイズ	充てん剤名	順相系			
		CHIRALPAK®		CHIRALCEL®	
		AD-H	AS-H	OD-H	OJ-H
1cm ×25cm	302-13221	500,000円	500,000円	500,000円	500,000円
		303-13251	304-13281	301-13311	
2cm ×25cm	309-13231	1,300,000円	1,300,000円	1,100,000円	1,100,000円
		300-13261	301-13291	308-13321	
1cm ×2cm ガードカラム	306-13241	150,000円	150,000円	150,000円	150,000円
		307-13271	304-13301	305-13331	

Strem社製 キラル試薬

全製品在庫しました!

米国の高純度金属試薬のメーカーのStrem社の製品を多く在庫しました(約1300製品)。特にキラル試薬については一部の危険品、不安定品を除いてほぼ全製品の在庫をしております。

詳しくはお問合せ下さい。

食品中マイコトキシン検査キット

Agri-Screen® for Aflatoxin

アフラトキシンは最も強力な天然物由来発がん物質として知られています。収穫前や収穫後貯蔵された作物中に生じたカビにより生成し、食品、飼料検査の中で特に重要な項目です。

特長

簡便

- 目視定性判定用
- 特別な技術が不要
- 測定に必要な試薬をすべて含む
- 5分以内で判定

正確さ

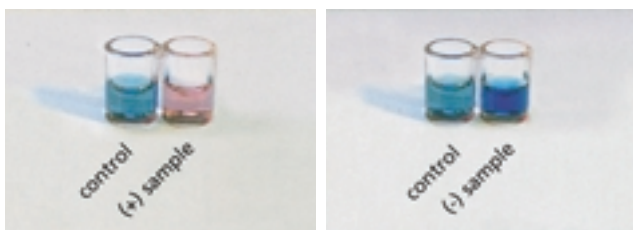
- コントロールとの比較評価
- 従来法であるHPLC法とよく対応
- アメリカUSDA/FGISによる承認済
- AOAC-International (990.32) の公定法

キット内容

- 1 抗体固定化ウェル24個
- 2 混合用ウェル24個
- 3 コントロール20ppb1個
- 4 酵素標識アフラトキシン溶液1個
- 5 K-Blue基質液1個
- 6 レッドストップ液1個
- 7 取扱説明書1部



判定結果



アフラトキシン検査キットの比較表

測定の目的に応じて数種のキットを提供しています。

品名	目的	測定濃度・範囲	感度	測定方法
Agri-Screen® for Aflatoxin	定性用	20ppb (注1)	-	目視 (注2)
Veratox for Aflatoxin	定量用	5 ~ 50ppb	1ppb	マイクロウェルリーダー
Veratox for Aflatoxin Single Test	定量用	5 ~ 320ppb	5ppb	マイクロウェルリーダー
Veratox for Aflatoxin High Sensitivity	定量用	1 ~ 8ppb	0.5ppb	マイクロウェルリーダー

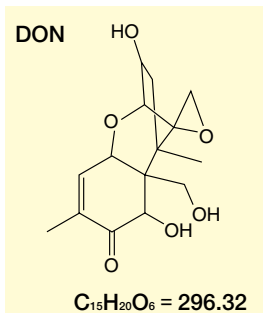
注1) 他の濃度についても設定可能

注2) マイクロウェルリーダーにより測定可能

使い勝手に優れた専用のマイクロウェルリーダーも取揃えています。

Agri-Screen® for DON

DON (Deoxynivalenol, Vomitoxin) はカビにより生じ、急性の胃腸障害を引き起こします。飼料に含まれると、飼育動物の食欲減退、免疫抑制、下痢、体重減少を招き、特にブタに対して顕著です。



判定結果



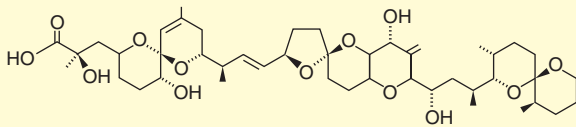
メーカーコード	品名	項目	容量	希望納入価格(円)
8010	Agri-Screen® for Aflatoxin	アフラトキシン検査 (定性用)	18回用	26,000
8030	Veratox for Aflatoxin	アフラトキシン検査 (定量用)	40回用	61,000
8041	Veratox for Aflatoxin Single Test	アフラトキシン検査 (定量用)	16回用	36,000
8031	Veratox for Aflatoxin High Sensitivity	アフラトキシン検査 (定量用)	38回用	61,000
8310	Agri-Screen® for DON	DON検査 (定性用)	20回用	41,000
8331	Veratox for DON 5/5	DON検査 (定量用)	38回用	80,000
8330	Veratox for DON 10/10	DON検査 (定量用)	38回用	80,000
8810	Agri-Screen® for Fumonisin	フモニシン検査 (定性用)	20回用	42,000
8830	Veratox for Fumonisin	フモニシン検査 (定量用)	38回用	80,000
8610	Veratox for Ochratoxin	オクラトキシン検査 (定量用)	38回用	80,000
8210	Veratox for T-2 Toxin	T-2トキシン検査 (定量用)	38回用	80,000
8110	Veratox for Zearalenone	ツェアラレノン検査 (定量用)	38回用	80,000



ジノフィシストキシン-1

クロイソカイメン (*Halichondria okadai*) より単離され、オカダ酸の35位メチル化構造をもつ下痢性貝毒の一種です。Non-TPA*タイプの強力な発がんプロモーターであり、プロテインホスファターゼの特異的阻害作用を有します。

(* TPA : 12-O-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetate)



$C_{45}H_{70}O_{13} = 819.03$

【参考文献】

- 1) Suganuma, M. *et al.* : *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 85, 1768(1988)
- 2) 安元 健他 : 天然有機化合物討論会講演要旨集, 28, 192(1986)
- 3) 菅沼雅美、藤木博太 : 実験医学, 8, 34(1990)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
042-28661	Dinophysistoxin-1	生化学用	100µg	30,000

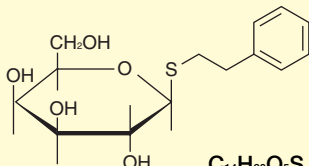
関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
150-01653	Okadaic Acid	生化学用	25µg	10,500
154-01651	Okadaic Acid	生化学用	100µg	30,000
156-02211	Okadaic Acid Ammonium Salt	生化学用	100µg	20,000



2-Phenylethyl -D-Thiogalactoside

本品は -ガラクトシダーゼの阻害剤として使用されます。



$C_{14}H_{20}O_5S = 300.37$

含量(HPLC): 98%以上

水分含量: 5%以下

溶解液: メタノール

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
163-20961	2-Phenylethyl -D-	生化学用	250mg	9,000
169-20963	Thiogalactoside		1g	27,000



0.5w/v% メチルセルロース溶液400cP, 滅菌済

薬剤の安全性・毒性試験において、水に不溶性薬剤は、粘性のあるメチルセルロース溶液に懸濁して経口投与されます。しかし、メチルセルロースは溶解が面倒で、調製に多くの時間が費やされています。

本品は、メチルセルロース400cPを0.5%(w/v)溶解した溶液です。面倒な溶解が不要な上、バリデートされた滅菌条件で製造されていますので、安心してお使い頂けます。

特長

1. 面倒な溶解が不要。
2. バリデートされた滅菌条件で製造。

規格

蒸発残分: 0.4~0.6%

生菌数試験: 試験適合(日本薬局法一般試験法 微生物限度試験法 生菌数試験中のカンテン平板混釈法による)

【参考文献】

- 1) 松岡理、白須泰彦編:「新しい毒性試験と安全性の評価」,P13(ソフトサイエンス社).
- 2) Kita, Y. *et al.* : *Eur. J. Pharmacol.*, 257, 123(1994)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-14255	0.5w/v% Methyl Cellulose 400cP Solution, Sterilized	生化学用	500ml	3,800

Fusarium oxysporum用選択培地の作製に Wako

25%イミノクタジン三酢酸塩溶液

植物病原菌の1つ *Fusarium oxysporum* 用選択培地に従来から使用されていたPCNB(ペルクロロニトロベンゼン)の製造中止に伴いPCNBを含まずかつ *Fusarium oxysporum* を低~高希釈の土壤懸濁液から分離できる新しい選択培地が確立されました^{1,2)}。

本品25%イミノクタジン三酢酸塩溶液はこの新しい選択培地の作製に使用され、*Trichoderma*属菌の生育を抑制します。土壤微生物学、菌体の研究に有用です。

添加量: 培地1lあたり0.05ml~0.4ml

組成

(重量%)

イミノクタジン三酢酸塩	25%
ポリオキシエチレンアルキルエーテル	5%
メタノール	3%
酢酸	1%
水	66%

【参考文献】

- 1) 西村範夫: 日植病報, 67(2) 198(2001)
- 2) 西村範夫: 九病虫研報, 47, 158(2001)

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
097-04931	25% Iminoctadine Triacetate Solution	選択培地用	100ml	4,000

コージンバイオ製 KOHJIN BIO 細胞培養用無血清培地シリーズ

高密度培養用培地 KBM450(ハイブリドーマ用)

動物細胞は、微生物細胞に比べて増殖速度や有用生理活性物質の生産速度が遅いため、有用生理活性物質を工業的に大量生産するためには、細胞培養装置の単位体積あたりの生産性の向上が必須です。

コージンバイオでは、細胞の高密度培養用無血清培地 KBM450を開発しました。

KBM450は、多くのハイブリドーマの培養において1週間程度培地交換なしでも培地成分が枯渇することがなく、細胞の高密度化を計れます。特に培養後期に抗体を産生するタイプのハイブリドーマからの抗体回収も容易です。また、通常の動物細胞培養でも使用可能です。

特長

200 × 10⁴ cells/ml以上のハイブリドーマなどの細胞密度を安定して保つ。

培養条件により細胞密度10⁶個/ml以上が可能である。

2～8の冷暗所で8ヶ月の保存が可能である。

効果的な緩衝剤の使用により、過度にpHが変動しない。

アルブミンなどを含まない無血清培地である。

タンパク成分として、トランスフェリンおよびインスリンを合計5 mg/ℓ以下含む。

適用

▶ 抗体産生細胞の培養および抗体の単離

マウスまたはヒトハイブリドーマ細胞の培養に最適です。

▶ 株細胞の培養

物質生産やワクチンの生産に用いられる株細胞の高密度培養にも適しています。

▶ クローニング

マウスハイブリドーマ細胞の限界希釈法によるクローニングを効率的に行えます。

品質検査

生物汚染試験	一般細菌培養
	マイコプラズマ培養
	エンドトキシン測定
細胞増殖試験	ハイブリドーマ細胞増殖
	EBウイルス形質転換ヒトBリンパ球増殖
	Vero細胞増殖
抗体アッセイ	ハイブリドーマ細胞の培養上清をPHA法などで測定

その他、一般物理・化学的試験を実施。

規格

浸透圧：260～320mOsm/kg

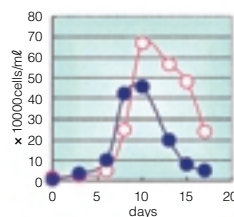
pH：7.0～7.2（5%CO₂下にて）

エンドトキシン：0.3EU/ml以下

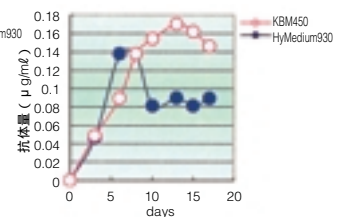
培養例

1. 2種類の培地によるヒト型抗体を産生するハイブリドーマの培養

ハイブリドーマの増殖

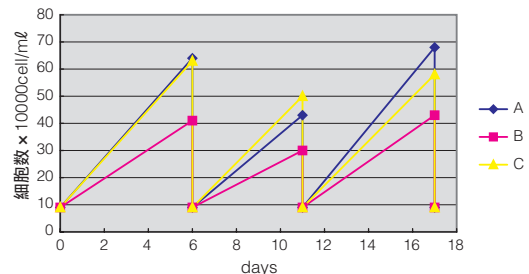


ハイブリドーマによる抗体産生



ハイブリドーマはマウス由来で培養後期（1週間以上）に抗体を産生するタイプを用いた。細胞の増殖のピークは両方の培地とも培養10日目であった。その時のKBMの細胞数は、HyMedium930より40%高かった。また抗体産生は、HyMedium930が6日目からピークに対して、KBMは8～17日まで高い水準を維持していた。

2. Vero細胞の継代培養



(培地) A：コージンバイオ無血清培地 KBM450

B：X社 無血清培地

C：Y社 高グルコースダルベッコMEM（血清5%添加）

(細胞) Vero (African green monkey kidney)

2日ごとに培地交換し、6日目ごとに継代した。

継代は3回行い、各々回収された細胞を図にプロットした。

保存条件

2～8の冷暗所にて、保存。

有効期限：製造後8ヶ月（ラベル記載）

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
633-03933	16009601	高密度培養用培地 KBM450	100ml	2,500
639-03935	16009605	(ハイブリドーマ用)	500ml	7,500
637-03931	16009600	(抗生物質含有)	1,000ml	12,000

関連商品

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
636-03945	16009705	高密度培養用培地 KBM400	500ml	9,000
634-03941	16009700	(ヒトリンパ球培養用) (抗生物質含有)	1,000ml	15,000
633-03955	16009805	高密度培養用培地 KBM210	500ml	6,000
631-03951	16009800	(ワクチン・株化細胞用) (抗生物質含有)	1,000ml	9,500

* その他、特注培地も承っております。見積依頼書をご用意しておりますので、当社営業員にお申し付け下さい。

ホルマリン刺激臭を抑えた Wako 病理組織固定液

マイルドホルム®シリーズ

マイルドホルム®とは、Lillie処方に従って調製された中性緩衝ホルマリン液にホルマリンの刺激臭と不快臭を抑えたマイルド剤（ワインエキス）を添加した固定液です。（作業安全性を考え、ホルマリンと認識できる程度のおいしは残しています）

*マイルド剤の作用原理...マスキング効果によりホルマリンの刺激臭と不快臭を抑制します。

特長

酵素抗体法による免疫組織染色の組織固定に最適。
組織への浸透、固定力は中性緩衝ホルマリン液と同等以上。

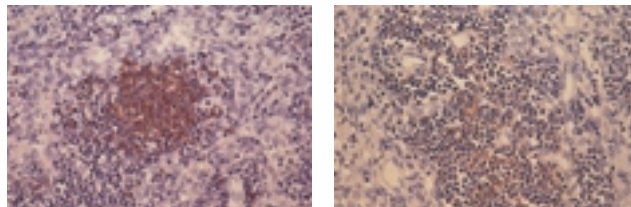
組成

品名	ホルマリン濃度	組成	ホルムアルデヒド含量	pH
Mildform® 10N	10%	ホルマリン原液 100mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g 水を加えて1ℓとする	4%	7.0 } 7.5
Mildform® 10NM		ホルマリン原液 100mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g メタノール 100mℓ 水を加えて1ℓとする		
Mildform® 15N	15%	ホルマリン原液 150mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g 水を加えて1ℓとする	6%	
Mildform® 15NM		ホルマリン原液 150mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g メタノール 150mℓ 水を加えて1ℓとする		
Mildform® 20N	20%	ホルマリン原液 200mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g 水を加えて1ℓとする	8%	
Mildform® 20NM		ホルマリン原液 200mℓ りん酸-Na・二水和物 4.5g りん酸二Na・無水 6.5g メタノール 200mℓ 水を加えて1ℓとする		

N : Neutral 中性を表します。マイルドホルム®は中性緩衝ホルマリンをベースにしています。

M : Methanol メタノールを含んでいることを表します。メタノールを添加することで組織への浸透・固定力が高くなります。

一般にNMタイプは迅速に短時間で固定したい場合に特に適します。また、ホルマリン・メタノール（FM）固定液として結合組織や脂肪組織を多く含む検体の固定にも優れています。



例：マイルドホルム®20N固定による免疫染色（ヒトリンパ節組織 pan B）

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-10311	Mildform® 10N	病理研究用	1ℓ	2,300
131-10317			20ℓ	11,500
132-10521	Mildform® 10NM	病理研究用	1ℓ	2,500
130-10527			20ℓ	13,400
132-14301	Mildform® 15N	病理研究用	1ℓ	2,300
130-14307			20ℓ	11,500
139-14311	Mildform® 15NM	病理研究用	1ℓ	2,500
137-14317			20ℓ	13,400
136-10041	Mildform® 20N	病理研究用	1ℓ	2,300
134-10047			20ℓ	11,500
139-10531	Mildform® 20NM	病理研究用	1ℓ	2,800
137-10537			20ℓ	13,400

Wako

SP6 RNA Polymerase, recombinant, Solution

T3 RNA Polymerase, recombinant, Solution

T7 RNA Polymerase, recombinant, Solution

本品はSP6, T3, T7プロモーターを持つ2本鎖DNAを鋳型にして、RNAを合成するDNA依存型RNAポリメラーゼです。プロモータ配列の下流より特異的にRNAを合成します。

内容

[SP6, T3 RNA Polymerase]

SP6, T3 RNA Polymerase, recombinant, Solution...5,000units
100nmol/ℓ DTT1ml
5 × T transcription Buffer2.5ml

[T7 RNA Polymerase]

T7 RNA Polymerase, recombinant, Solution5,000units
10 × T transcription Buffer0.5ml

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
543-02261	SP6 RNA Polymerase, recombinant, Solution	遺伝子研究用	5,000units	17,000
540-02271	T3 RNA Polymerase, recombinant, Solution	遺伝子研究用	5,000units	14,000
543-02021	T7 RNA Polymerase, recombinant, Solution	遺伝子研究用	5,000units	12,000

1903年の化学を顧みて

大阪大学名誉教授 芝 哲夫

原子模型の提案

イギリスの物理学者J.J.Thomsonによって1897年に素粒子としての電子が発見されて以来、その電子から構成される原子構造の模型が探求された。1903年になってP.Lenardは原子の中心に負と正の電荷が結びついたディナミドdynamidの群が存在して、その他は空っぽの核で出来ているという模型を提出した¹⁾。それに対してJ.J.Thomsonは原子は均質に帯電した球で出来ていて、その中に電子が充満しているとする陽球型またはプラム・プディング型あるいはレーズン・マフィン型と呼ばれる原子模型を提案した。しかしこの原子模型では原子が容易に貫通されることや、容易にイオン化されることが説明できない。長岡半太郎はこの年の末に、東京数学物理学会の常会で「帯および線スペクトルと放射線現象を説明する典型原子間における粒子運動について」と題する講演で、土星型原子模型を発表したが、欧文発表は翌1904年になった。



第1図 . J.J.Thomson

線見つかる

1896年にA.H.Becquerelがウランの放射能を発見し、続いてCurie夫妻がラジ

ウムを発見して以来、放射線としての線、線が知られていたが、1903年になってE.RutherfordとF.Soddyが元素変換の時に生じる波長の短い電磁波である第3の放射線を発見し、線と名づけた。今日ではこの線はMössbauer効果を用いる研究、材質の非破壊検査、癌の治療などに広く利用されている。

アクチニウムとエマニウムから放射性気体発見される

Curie夫妻が1898年にピッチブレンド中にラジウムを発見したが、その翌年にM.Curieの協同研究者のA.Debiernelは同じピッチブレンドの希土類混合物からラジウムと異なる弱い放射線を発する新元素を発見してアクチニウムと命名していた。1903年になってDebiernelはこのアクチニウムから発生する放射能について報告を出したが²⁾、同じ年にF.Gieselもピッチブレンドから放射性気体を生じる新元素エマニウムemaniumを報告した³⁾。その後Giesel自身このエマニウムはアクチニウムと同一物質であることに気づいたが⁴⁾、1906年になって、O.Hahnが両者が同一元素であることを証明した⁵⁾。これは半減期21.6年の²²⁷Acであった。

シンチレーションの発見

この年、W.Crooks⁶⁾とJ.Elster, W.Geitel⁷⁾が独立に、物質が放射線の刺激によって発光するシンチレーションの現象を発見した。発光物質をシンチレーターといい、今日では無機物質ではNaI, CsI, ZnSの結晶、有機物質ではアントラセン、ナフタリンなどの結晶が知られていて、計数管に利用されている。

原子量委員会が原子量を発表

第1回万国原子量委員会が83元素について、はじめて公認の原子量を発表した。

これはO = 16、H = 1の二本立ての原子量を基準とする案であったが、日本委員はO = 16の一本立てを主張して抗議書を提出した。

赤外分光分析法が開発される

W.W.Coblentzによって物質の赤外領域における吸収スペクトルから分子構造を解析する赤外分光分析infrared spectroscopic analysisまたは赤外線吸収分光法infrared absorption spectroscopyが開発された。

空中窒素はじめて固定される

1909年の有名なF.HaberとK.Boschによる空中窒素固定より以前の1903年にノルウェーのC.BirkelandとS.Eydeによって高温で空气中に電弧を飛ばして、窒素を直接酸素に結合させて硝酸として固定する方法が開発され、電弧式硝酸製造法として特許が取られていた。

高圧ボンベが製作され加圧化学反応の途が開かれる

1903年にモスクワの化学者Vladimir Nikolaevich Ipatieff (Ipatèv) が高圧ボ



第2図 . V.N.Ipatieff

ンペを製作して、化学反応における高圧研究の先駆をなした。1927年には高圧研究所が設立された。Ipatieffはその後、米国に渡って、不飽和炭化水素の高圧水素添加反応の研究を行った。

伝導滴定法が開発される

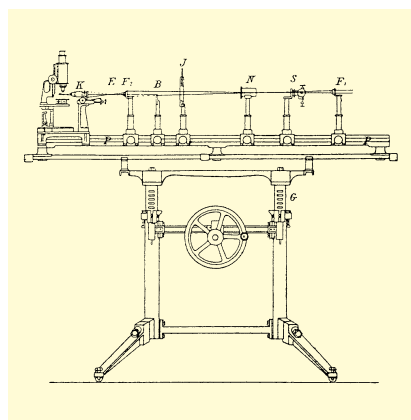
F.W.KüsterとM.Grüstersによってこの年、酸、アルカリ滴定の終点を溶液の伝導度で測定する伝導滴定法conductometric titrationがはじめて開発された⁸⁾。伝導度の変化はコールラウシュブリッジによる低周波交流を用いて鋭敏に測定される。着色溶液の懸濁液でも滴定できる特徴がある。

ヨウ素酸塩滴定法も始められる

L.W.Andrewsがヨウ素酸カリウム標準液を用いて、還元性物質を滴定するヨウ素酸塩滴定法iodatimetric titrationを創始した。

限外顕微鏡が発明される

光学顕微鏡では普通には見えない微粒子をティンダル現象を利用して見えるようにした限外顕微鏡ultramicroscopeがドイツのR.ZsigmondyとH.Siedentopfにより発明された⁹⁾。金コロイド溶液中の



第3図 . Zsigmondyが用いた限外顕微鏡装置

粒子を側面より光を照射して顕微鏡下に暗視野の背景で光点を観察した。光の照射法にはスリットを用いる方法と集光器を用いる方法がある。前者は定量的測定に適し、後者では0.004 μm の微粒子まで測定できる。

クロマトグラフィーが現れる

1903年、ロシアの植物学者Mikhail Semenovich Tsvet (Tswett) が植物色素の葉緑素クロロフィルを、炭酸カルシウムをガラス管に充填した吸着層に加えて、石油エーテルで展開して分離する方法を考案して、色素図という意味のクロマトグラフィーchromatographyと名づけた^{10, 11)}。これがもとになって、種々のクロマトグラフィーが開発され、移動層が液体か気体かで、液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、さらにはイオン交換クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィーと発展する。

しかし、Tsvetよりかなり以前から同じ原理にもとづいて色素類の分離実験がいくつか行われていた。まず、F.Rungeは1834年に色素溶液を紙に滴下するいわゆる斑点分析で、同心円の環が分離する



第4図 . M.S.Tsvet

のを観察している^{12, 13, 14)}。それから3~40年後にはF.Goppelsroeder¹⁵⁾とC.Schönbein¹⁶⁾は別々に現在のペーパークロマトグラフィーの原型を発表している。さらには1893年にはL.Reedがカロリンを充填した管を用いて無機着色化合物やアルカロイドの分離を試みている¹⁷⁾。Tsvetより70~10年前のことである。

ウルマン反応見つかる

F.Ullmannが1903年にo-クロロ安息香酸とアニリンを少量の銅粉の存在下で加熱してジフェニルアミン誘導体を生成するウルマン反応を見つけた。ハロゲン化アリールを銅粉と加熱してビフェニルを得る反応も同じ名のウルマン反応と呼ばれるが、これは翌1904年に見い出された。

E.Fischer ペプチドを合成

E.Fischerは1902年に蛋白質はアミノ酸が酸アミド結合で鎖状に連結した構造であるとするポリペプチド説を提唱したが、翌1903年に α -ハロゲン酸塩化物にアミノ酸を縮合してから、アンモニアでハロゲンをアミノ基に変えて、ジペプチドを合成した。しかし最初のペプチド合成は前年の1902年にT.Curtiusによりアジド法で行われていた¹⁸⁾。

シクロデキストリン発見される

F.Schardingerが澱粉から *Bacillus macerans*由来の酵素アミラーゼによってD-グルコースが α -1,4結合で環状構造となったシクロデキストリンが生成することを発見し、シャルディンガーデキストリンと呼んだ。Schardingerが得たものはグルコースの重合度が6の α -シクロデキストリンであったが、後に重合度7の β -シクロデキストリン、重合度8の γ -シクロデキストリンも見い出された。

催眠薬ペロナルが創成される

E.Fischerは尿素とマロン酸との縮合物であるバルビツール酸誘導体の研究を重ねていたが、1903年にE.FischerとJ.v.Meringにより5,5-ジエチルバルビツール酸が合成されて、Farbenfabriken Bayer A.G.から催眠薬ペロナルveronalとして売り出された。

化学繊維ヴィスコースの工業生産法が開発される

最初の化学繊維ヴィスコースは1892年にC.F.Crossによって発明されていたが、1903年になってW.H.StearnとF.Tophamによりその工業的生産法が開発された。溶液パルプを苛性ソーダでアルカリセルロースにして、その圧搾アルカリセルロースを粉碎してから35%量の二硫化炭素で硫化すると繊維は膠化してゼリー状になる。得られたセルロースキサントゲン酸ナトリウムを水に溶解してヴィスコースにする。これはその後セロファン製造に多用された。

ジュラルミンが発明された

ドイツのA.Wilmがアルミニウムの銅、マグネシウム、マンガンなどとの合金、ジュラルミンduraluminを発明した。その名はこれを工業化したDürer Metalwerk A.G.に因んで名づけられた。一説にはラテン語のdurus(硬い)とaluminumの合成語ともいう。

J.W.Gibbs逝く

熱力学を化学平衡に応用して「不均一物質の平衡について」の重要な論文を書き、ギブスの自由エネルギーで知られているアメリカの物理化学者Josiah Willard Gibbs(1839-1903)が、この年4月28日に逝去した。



第5図 . J.W.Gibbs

G.Stokes逝く

粘性流体の抵抗に関するストークスの法則を導いたGeorge Gabriel Stokes(1819-1903)がこの年2月1日に死去した。

【参考文献】

- 1) Lenard, P. : *Ann. Physik.*, 72, 714(1903)
- 2) Debierrne, A. : *Compt. Rend.*, 136, 446(1903)
- 3) Giesel, F. : *Ber.*, 36, 3421(1903)
- 4) Giesel, F. : *Ber.*, 37, 1696, 3963(1904)
- 5) Hahn, O. : *Physik. Z.*, 7, 557(1906)
- 6) Crooks, W. : *Proc. Roy. Soc(London)* 71, 406(1903)
- 7) Elster, J., Geitel, W. : *Physik. Z.*, 4, 439(1902/1903)
- 8) Küster, F. W., Grüters, M. : *Z. Anorg. Chem.*, 35, 454(1903)
- 9) Siedentopf, H., Zsigmondy, R. : *Ann. Physik.*, 10, 1(1903)
- 10) Tswett, M. : *Tr. Warsawsk Obst. Jestsesv. Otd. Biol.*, 14, 20(1903)
- 11) Tswett, M. : *Ber. Dtsch. Botan. Ges.*, 24, 316, 384(1906)
- 12) Runge, F. F. : *Ann. Physik. Chem.*, 17, 31, 65(1834) 18, 32, 78(1834)
- 13) Runge, F. F. : "*Farbenchemie*" I(1834) II(1843)
- 14) Runge, F. F. : "*Farbenchemie*" II(1850)
- 15) Goppelsroeder, F. : *Z. Anal. Chem.*, 7, 195(1968)
- 16) Schönbein, C. : *J. Chem. Soc.*, 33, 304(1878)
- 17) Reed, L. : *Proc. Chem. Soc.*, 9, 123(1893)
- 18) Curtius, T. : *Ber.*, 35, 3226(1902)

遺伝子導入装置「Nucleofector™」専用キットにラット神経細胞用キット追加



amasa社のNucleofector™はエレクトロポレーション法を応用した遺伝子導入装置で、プライマリー細胞のみならず、種々の株化細胞に対して高い導入効率を実現できます。

本システムは、細胞ごとに専用の試薬および専用プログラムが用意されているため、条件検討を必要とせず、安定した導入効率が得られます。

今回、ラット神経細胞用キットがラインナップされました。専用プログラムと添付試薬を用いることで約50%～70%とウイルスを用いずに、非常に高い導入効率が可能です。

また、本ラット用キット以外に、マウス、チキン用の神経細胞用キットを揃えています。



特長

- 高い形質導入効率
- 操作が簡単
- ウイルス法に比べ低コスト

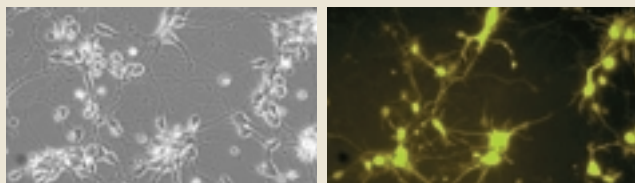
構成 (25回用)

- Rat Neuron Nucleofector™ Solution2.25ml
- Supplement0.5ml
- キュベット25個
- ピペット25個
- プロトコール

導入データ

導入後48時間経過時の顕微鏡像

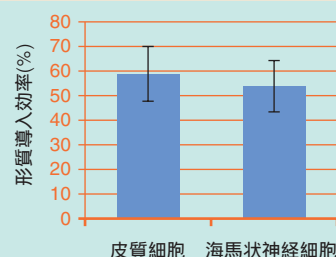
導入後48時間経過時の蛍光顕微鏡像



海馬状神経細胞へpEYFPをRat Neuron Nucleofector™ Kitを用い、Nucleofector™ Deviceの専用プログラムO-03により導入

形質導入効率

海馬状神経細胞、皮質細胞における導入効率は50%～70%と高い導入効率を実現します。(顕微鏡下での目視で導入効率を計測)



5 μgのpEGFP導入時より皮質細胞は72時間後、海馬状神経細胞は24時間後の形質導入効率

試薬

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
NEW 570-38681	VPG-1003	Rat Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
570-35521	VPG-1001	Mouse Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
577-35531	VPG-1002	Chicken Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
507-98931	VPA-1001	Human B Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
504-98941	VPA-1002	Human T Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
501-98951	VPA-1003	Human CD34 Hematopoietic Progenitor Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
579-32671	VPA-1004	Human Dendritic Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
508-98961	VPB-1001	Human Coronary Artery Endothelial Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
505-98971	VPB-1002	Human Umbilical Vein Endothelial Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
573-35491	VPB-1003	Human Microvascular Endothelial Cell-Lung Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
502-98981	VPC-1001	Human Aortic Smooth Muscle Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
509-98991	VPD-1001	Normal Human Dermal Fibroblast Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
506-99001	VPD-1002	Normal Human Epidermal Keratinocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
503-99011	VPD-1003	Normal Human Epidermal Melanocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
576-35481	VPE-1001	Human Mesenchymal Stem Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
500-99021	VCA-1001	Nucleofector™ Kit R for Cell Line(e.g. for HeLa, NIH 3T3)	25回用	60,000
507-99031	VCA-1002	Nucleofector™ Kit T for Cell Line(e.g. for CHO, UT7/Epo)	25回用	60,000
504-99041	VCA-1003	Nucleofector™ Kit V for Cell Line(e.g. for 293, COS-7, K562, PC12, Jurkat, HepG2)	25回用	60,000
573-26341	VCO-1001	Cell Line Optimization Nucleofector™ Kit	50回用	140,000

導入装置

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
500-98921	AAD-1001	Nucleofector™ Device	1台	2,500,000

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用など他の用途には用いられません。

記載価格は希望納入価格であり消費税などは含まれておりません。

和光純薬時報 Vol.71 No.1

2003年1月15日発行

発行責任者 金澤廣継

編集責任者 大西礼子

発行所 和光純薬工業株式会社

〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

TEL.06-6203-3741 (代表)

URL <http://www.wako-chem.co.jp>

印刷所 デジタル総合印刷株式会社

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 oonishi.reiko@wako-chem.co.jp

製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。

フリーダイヤル 0120-052-099

フリーファックス 0120-052-806

E-mail labchem-tec@wako-chem.co.jp