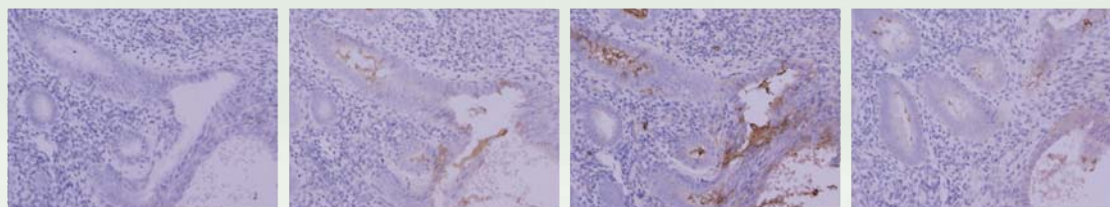


和光純薬時報

April 2016
Vol.84 No.2

Endometrioid



Control

MLS128 (Tn)

MLS132 (Sialyl Tn)

MSW113 (Sialyl Le^x)

〔総説〕

「がん関連糖鎖抗原を認識する単クローン抗体 MLS128, 132 及び MSW113」

中田 博…………… 2

〈テクニカルレポート〉

「蛍光組織染色が可能なシアリダーゼ蛍光プローブ」 大坪 忠宗、池田 潔、南 彰、高橋 忠伸、鈴木 隆…………… 5

「反応性代謝物検出のための Presep[®] XenoScreen[™] 96well Plate を用いた試料前処理について」 須藤 勇紀…………… 8

〔製品紹介〕

有機合成

Johnson Matthey 社製 カップリング反应用貴金属触媒 … 10

不斉合成酵素触媒 アミノリパーゼ …………… 10

環境・分析

XenoScreen[™] …………… 9

シリカゲルプレート …………… 11

局方一般試験法用 容量分析用標準液 …………… 11

水質管理目標設定項目対応 農薬混合標準液…………… 12

ポジティブリスト関連標準品 …………… 14

QTofMS 用溶媒…………… 15

食品分析用 リパーゼ H、リパーゼ S…………… 15

細胞生物・生化学

BTP3-Neu5Ac-Na …………… 7

アクアブロット[™] 10 × 高効率転写バッファー…………… 16

タンパク質還元剤 …………… 17

YM-254890 …………… 17

ストレプトアビジン…………… 17

YNT-185・2HCl …………… 18

ピモニダゾール塩酸塩…………… 18

培養

KY03-I …………… 19

CKI-7 二塩酸塩, MF …………… 19

神経細胞用培地…………… 20

トリプシン EDTA 溶液(フェノールレッド不含), AF …… 20

コラゲナーゼ タイプ A/B/C …………… 21

汎用粉末培地…………… 22

ヒト ES/iPS 細胞モニタリングキット …………… 28

免疫

がん関連抗糖鎖モノクローナル抗体 …………… 4

プリスタン, 合成品 …………… 22

抗糖鎖モノクローナル抗体シリーズ …………… 23

抗りん酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体(pSyn#64),

ビオチン結合、FITC 結合 …………… 24

視神経研究用ポリクローナル抗体…………… 24

遺伝子

Ni-NTA アガロース HP …………… 26

PIPA (ピロール・イミダゾール) からなるポリアミド …… 26

TA- エンハンサークロニングキット …………… 27

〔お知らせ〕

細胞培養関連商品紹介サイト「Culture-wako.com ～カルチャーワコードットコム～」開設のご案内 …… 18

1 はじめに

一般的に上皮性細胞はムチンと呼ばれる高分子の糖タンパク質を産生する。ムチンは膜結合型と分泌型に大別され、いずれも O-グリカンに富み、糖含量は 50% を越える。本来の生物学的機能は消化管や気道などの粘膜を保護する物質である。がん化に伴って、糖鎖の質的変化と上皮組織の崩壊（極性の消失）による存在状態の変化が見られる。すなわち、正常な状態では組織のアピカル側のみに存在していたムチンががん組織全体や血流中にも見出されるようになる。糖鎖の質的変化はがん関連糖鎖抗原の発現として捉えられ、それらの多くに対して単クローン抗体が作製されてきた。がん関連糖鎖抗原の研究は糖脂質の糖鎖に発現されているものについて先行する形で始まった。糖脂質が比較的精製し易く、その糖鎖の均一度も高いことが主な理由である。しかし、がん患者血清中に見出される抗原は、通常、高分子のムチン型糖タンパク質であること、我々の従来の研究成果からも糖タンパク質糖鎖のがん性変化としては、ムチン型糖鎖に最も顕著に見られることから、ムチン型糖鎖を認識する単クローン抗体を対象を絞った。

当研究室では、がん関連糖鎖抗原に対する単クローン抗体の作製、エピトープの解析、腫瘍マーカーとしての利用及び生物学的機能の解析などの研究を行ってきた。免疫原としては、ヒト大腸がん由来細胞株 SW1116 や LS180 を用い、免疫方法としては 2 つの手法を試みた。1 つは一般的に用いられている方法で、直接がん細胞をマウスの腹腔に投与するもので、IgG を得るために長期にわたって免疫した。この方法で単クローン抗体 MSW113 を得た。もう 1 つの方法はがん細胞をヌードマウス (Balb/c, nu/nu) の背皮下に注射し、直径約 1cm の腫瘍が形成され

たところ、ヘテロマウス (Balb/c, nu/+) の脾細胞を担がんヌードマウスの腹腔内に投与した。約 1 ヶ月後、腫瘍の退縮したマウスの脾細胞を用いて、常法によりハイブリドーマを得た。この方法により単クローン抗体、MLS128 と MLS132 を得た。

技術的には、ハイブリドーマの選択を簡便化する目的で、先ずムチン型糖鎖に反応する抗体を検出するアッセイ系を確立した¹⁾。すなわち、ムチン上の糖鎖はペプチド鎖上に密集して結合していることが多く、プロテアーゼによる切断を受けにくい。従って、消化後も O-グリカンを含む糖ペプチドは比較的高分子であることを利用して、ペプチド断片や N-グリカンを含む糖ペプチドからゲル濾過によって分離し、プレートに固相化した。さらに、ハイブリドーマの培養上清の抗体価の測定にはプロテイン A を用いて IgG のみを選択した。この手法で得た単クローン抗体の中で組織化学的手法によりがん細胞及びがん組織と強く反応する単クローン抗体を産生するハイブリドーマを選択した。

2 3 つの単クローン抗体のエピトープの解析

上述した方法により得た抗体は、免疫原とした細胞から調製したムチン型糖ペプチド、N-グリコシド型糖ペプチド、糖脂質を固相化し、それぞれの抗体の反応性を調べるとともに、シアリダーゼ処理前後における反応性の変化の有無について調べた。MLS128 はムチン型糖ペプチドとのみ反応し、シアリダーゼ処理後も反応性を示した。MLS132 もムチン型糖ペプチドとのみ反応したが、シアリダーゼ処理により反応性は消失した。MSW113 はムチン型糖ペプチドと糖脂質と反応し、シアリダーゼ処理により反応性を消失した。

1) 単クローン抗体 MLS128 の認識するエピトープの構造^{2,3)}

がん関連糖鎖抗原の内、いわゆる糖鎖不全によって出現する抗原に T 抗原や Tn 抗原がある。Tn 抗原は元来、Tn 症候群と呼ばれる患者の赤血球膜上に見出されたものである。通常、腸内細菌の抗原に対して抗体がつくられ血清中に存在している。Springer らは、上皮性がん T や Tn 抗原が高頻度に発現していることを見出し、これらの抗原ががん関連糖鎖抗原とされた。ヒト大腸がん由来細胞株 LS180 を免疫原として作製した単クローン抗体 MLS128 は同細胞から調製したムチン型糖ペプチドの他、羊顎下腺ムチン (OSM) とも強く反応した。OSM をシアリダーゼ処理しても反応性に変化は見られなかったが、 α -N-アセチルガラクトサミニダーゼ処理により反応性は消失した。また、プロナーゼ処理により反応性は減弱した。これらの性質及び Tn 赤血球を凝集することから抗 Tn 抗体であることがわかった。アシアロ OSM を種々のプロテアーゼ処理して得られた断片を MLS128 抗体カラムに通し、結合した糖ペプチドをさらに HPLC (逆相カラム) により精製し、アミノ酸配列を決定した。その結果、抗原活性の高い糖ペプチドに共通してみられる構造は GalNAc-Ser (GalNAc)-Thr (GalNAc)-Thr であった (図 1)。さらに、グリコホリン A を材料としてエピトープの解析を行った。Tn 赤血球症のグリコホリン A は入手困難であることから、正常グリコホリン A をシアリダーゼ及び β -ガラクトシダーゼ処理することにより Tn 抗原活性が生じることを確認した上で、アシアロガラクトグリコホリン A を材料としてエピトープの構造を解析した。グリコホリン A は N-末端近傍に 2 つの糖鎖クラスターをもつ可能性のある配列 (Ser-Thr-Thr, Thr-Ser-Thr-Ser) を有するが、Mellors らが調製したグリコプロテアーゼ処理に

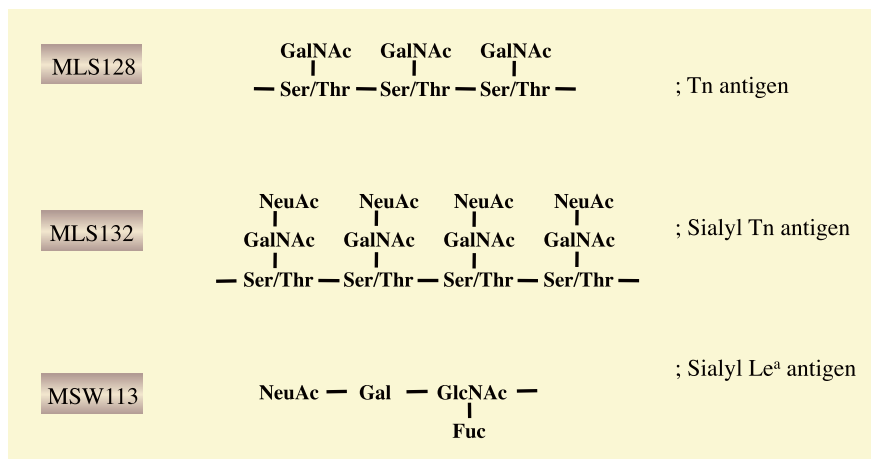


図1. 単クローン抗体の認識するエピトープの構造

より2つのクラスター間を切断し、それぞれの糖ペプチドを分離し、抗原活性を測定した。その結果、2つのクラスターは同等の抗原活性を有し、クラスター内のSer、Thrの配列順序に抗原活性は影響を受けないことがわかった。なお、その後の研究で連続したGalNAc-Ser/Thrの数と結合活性の強さについては測定温度によっても影響を受けることが明らかにされている⁴⁾。

2) 単クローン抗体 MLS132 の認識するエピトープの解析⁵⁾

単クローン抗体 MLS132 もヒト大腸がん細胞 LS180 を免疫原として作製されたものであるが、同細胞より調製されたムチン型糖ペプチドに加えて OSM とも反応した。その反応性はシアリダーゼ処理により消失すること、OSM の糖鎖の大半は SA α 2-6GalNAc であることから MLS132 の認識するエピトープは SA α 2-6GalNAc-Ser/Thr (シアリル Tn 抗原) であることが予想された。OSM をトリプシン処理して得た糖ペプチドを逆相カラムにより分画し、さらに MLS128 抗体カラムに通して強い抗原活性をもつ糖ペプチドを単離した。さらに、サーモリシンで処理した消化物を逆相カラムで精製し、強い抗原活性をもつ糖ペプチドのアミノ酸配列を解析したところ、いずれの糖ペプチドも FXGEXXXXXVIXGXNV

であった。この糖ペプチドをシアリダーゼと α -N-アセチルガラクトサミニダーゼ処理後にアミノ酸配列を解析することがわかった。すなわち、TSTT に連続して結合した SA α 2-6GalNAc が強い抗原活性をもつことがわかった (図1)。

3) 単クローン抗体 MSW113 の認識するエピトープの解析⁶⁾

単クローン抗体 MSW113 はヒト大腸がん由来細胞株 SW1116 を免疫原として作製されたものであるが、同細胞より調製したムチン型糖ペプチドに加えて、ヒト初乳オリゴ糖とも反応し、シアル酸を除去することにより抗原性を消失した。ヒト初乳を除タンパク質した後、ゲル濾過によって得たシアル酸を含有するオリゴ糖画分を MSW113 抗体カラムに通し、エピトープを含むオリゴ糖を得た。さらに、NH₂-60 カラムを用いて分画し、10 種以上のオリゴ糖を単離した。FAB-MS 及び ¹H-NMR を用いて構造を解析したところ、すべてのオリゴ糖でシアリル Le^a を含有していた。シアリル Le^a は単クローン抗体 NS19-9 の認識するがん関連糖鎖抗原 CA19-9 として知られている。NS19-9 と MSW113 は同じシアリル Le^a を認識するが、各種がん患者血清中の抗原量を同一患者で測定したところ、MSW113 がより高い陽性率を

示し、MSW113 は NS19-9 では認識できない修飾されたシアリル Le^a を含む糖鎖構造を認識することが示唆された。すなわち、ヒト初乳より単離されたオリゴ糖を用いて両単クローン抗体の反応性を比較すると NS19-9 はシアリル Le^a を含む枝分かれをもつ糖鎖、糖脂質に見られるシアリル Le^a に続く還元末端のラクトース構造を欠如した糖鎖などに対して著しく反応性が低いことがわかった。

3 がん関連糖鎖抗原に対する単クローン抗体を用いた研究の進展

松本らはシンデカン 1 上に Tn 抗原 (Clustered Tn antigen, トリメリック Tn) が発現し、同抗原の発現はがん細胞の転移能を亢進することを見出した⁷⁾。すなわち、高転移性のマウス Lewis lung carcinoma において ppGalNAc-T13 の発現亢進がみられ、その結果 MLS128 反応性の Tn 抗原の発現が上昇した。さらに、同抗原を発現するコアタンパク質はシンデカン 1 であることがわかった。Tn 抗原を発現するシンデカン 1 はインテグリン α 5 β 1 及び MMP-9 と相互作用し、これらの複合体は glycolipid-enriched microdomain に集結し、がん細胞の浸潤・転移能を高めることがわかった。

がん関連糖鎖抗原を認識する単クローン抗体は腫瘍マーカーの検出試薬として期待されてきた。早期発見などの目的には必ずしも対応しきれていないが、創意工夫によって新たなツールとしての可能性も残されている。子宮内膜症と卵巣がん患者の血液中には、CA125 抗原 (MUC16 上の抗原) が共通に検出される。その量的な差によって、両疾患を区別しているが、CA125 を発現する MUC16 の他の糖鎖に違いが見出されれば、質的な差として両疾患を明確に区別できると考えた。抗

子宮内膜症 21 症例
卵巣がん 36 症例

ELISAにてMUC16濃度測定

MUC16上のsTn測定

測定したsTn値を
アッセイに用いたMUC16量で割った値

MUC16 1U当たりのsTn値を計算

平均値 $\pm$ SD

子宮内膜症: 23.1 $\pm$ 20.5 pg/U

卵巣がん: 856.3 $\pm$ 1490.3 pg/U

子宮内膜症検体における平均値+3 SDをカットオフ値とした場合、

16/36 (44 %) の卵巣がん検体において、子宮内膜症検体よりも明確に高いsTn値が検出された。

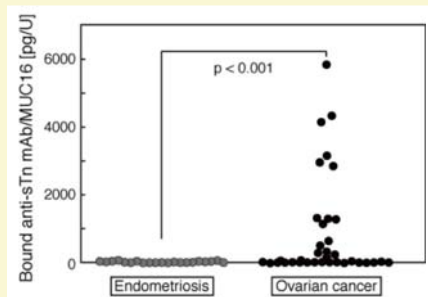


図2. 卵巣がん及び子宮内膜症患者血清中のMUC16上に発現されるシアリル Tn 抗原 (sTn)

CA125 抗体によってプレート上にMUC16をトラップし、MUC16上のシアリル Tn 抗原を測定すると子宮内膜症ではすべての症例 (n=21) で陰性であったが、卵巣がん患者 (n=36) では44%が陽性であった (図2)⁸⁾。現在、さらなる改良を加えており、有用な診断法の開発が期待される。

【参考文献】

1) Fukui, S., Horie, T., Numata, Y., Kitagawa, H.,

Nakada, H., Kawasaki, T., Funakoshi, I. and Yamashina, I. : "Characterization of mucin antigens recognized by monoclonal antibodies raised against human colon cancer cells.", *Cancer Res.*, **51**, 331-5 (1991).

2) Nakada, H., Numata, Y., Inoue, M., Tanaka, N., Kitagawa, H., Funakoshi, I., Fukui, S. and Yamashina, I. : "Elucidation of an essential structure recognized by an anti-GalNAc α -Ser (Thr) monoclonal antibody (MLS 128).", *J. Biol. Chem.*, **266**, 12402-5 (1991).

3) Nakada, H., Inoue, M., Numata, Y., Tanaka, N., Funakoshi, I., Fukui, S., Mellors, A. and Yamashina, I. : "Epitopic structure of Tn

glycophorin A for an anti-Tn antibody (MLS 128).", *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **90**, 2495-9 (1993).

4) Matsumoto-Takasaki, A., Hanashima, S., Aoki, A., Yuasa, N., Ogawa, H., Sato, R., Kawakami, H., Mizuno, M., Nakada, H., Yamaguchi, Y. and Fujita-Yamaguchi, Y. : "Surface plasmon resonance and NMR analyses of anti Tn-antigen MLS128 monoclonal antibody binding to two or three consecutive Tn-antigen clusters.", *J. Biochem.*, **151**, 273-82 (2012).

5) Tanaka, N., Nakada, H., Inoue, M. and Yamashina, I. : "Binding characteristics of an anti-Sia α 2-6GalNAc α -Ser/Thr (sialyl Tn) monoclonal antibody (MLS 132).", *Eur. J. Biochem.*, **263**, 27-32 (1999).

6) Kitagawa, H., Takaoka, M., Nakada, H., Fukui, S., Funakoshi, I., Kawasaki, T., Tate, S., Inagaki, F. and Yamashina, I. : "Isolation and structural studies of human milk oligosaccharides that are reactive with a monoclonal antibody MSW 113." *J. Biochem.*, **110**, 598-604 (1991).

7) Matsumoto, Y., Zhang, Q., Akita, K., Nakada, H., Hamamura, K., Tsuchida, A., Okajima, T., Furukawa, K., Urano, T. and Furukawa, K. : "Trimeric Tn antigen on syndecan 1 produced by ppGalNAc-T13 enhances cancer metastasis via a complex formation with integrin $\alpha 5 \beta 1$ and matrix metalloproteinase 9." *J. Biol. Chem.*, **288**, 24264-76 (2013).

8) Akita, K., Yoshida, S., Ikehara, Y., Shirakawa, S., Toda, M., Inoue, M., Kitawaki, J., Nakanishi, H., Narimatsu, H. and Nakada, H. : "Different levels of sialyl-Tn antigen expressed on MUC16 in patients with endometriosis and ovarian cancer." *Int. J. Gynecol. Cancer*, **22**, 531-8 (2012).

Products

Wako

がん関連抗糖鎖モノクローナル抗体

コード No.	品 名	アイソタイプ	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
010-25901 016-25903	Anti Sialyl-Le ^a Antigen, Monoclonal Antibody (MSW113) 	IgG ₃	糖鎖研究用	100 μ l 500 μ l	30,000 120,000
010-25881 016-25883	Anti Sialyl-Tn Antigen, Monoclonal Antibody (MLS132) 	IgG ₃	糖鎖研究用	100 μ l 500 μ l	30,000 120,000
017-25891 013-25893	Anti Tn Antigen, Monoclonal Antibody (MLS128) 	IgG ₃	糖鎖研究用	100 μ l 500 μ l	30,000 120,000

 製品情報はP.23をご参照下さい。

 2 ~ 10℃保存  20℃保存  80℃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、2016年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

蛍光組織染色が可能なシアリダーゼ蛍光プローブ

広島国際大学 薬学部 大坪 忠宗、池田 潔
 静岡県立大学 薬学部 南 彰、高橋 忠伸、鈴木 隆

はじめに

哺乳動物組織においてシアリダーゼ活性の高感度検出が可能となれば、神経などの生理機能解明のみならず、大腸がんの治療や診断などにおいて有用である。シアリダーゼ活性を測定するプローブとして、4-ニトロフェニル誘導体 (PNP-Neu5Ac)、5-ブロモ-4-クロロ-3-ヒドロキシインドール誘導体 (X-Neu5Ac)、4-メチルウンベリフェロン誘導体 (4MU-Neu5Ac) が市販されている。PNP-Neu5Ac は、ニトロフェノールが遊離するため、溶液全体が黄色に染まり裸眼で確認できることから好んで使われる。しかし目立たない色であり、培養液などの背景色の影響を受けやすく感度・精度が悪い。他方 X-Neu5Ac から遊離した X は、空気酸化を受けて不溶性インジゴ色素を生成し、組織に定着して青く染めることが可能である。両者はいずれも比色に基づく手法であるため感度が低く、哺乳類の組織に発現している低いシアリダーゼ活性を測定するには不十分である。これに対して一般的な蛍光基質である 4MU-Neu5Ac は高感度であり、細胞破壊までのシアリダーゼ活性測定にはよい基質であるが短所も多い。例えば 4MU は溶液状態で発光する一方、高い水溶性のために拡散しやすく、組織染色には不向きである。また 4MU の発光特性は pH の影響を強く受けるために、蛍光強度が組織や培養液の pH に依存する (pH : 7.79¹⁾ 以下では発光しにくい)。シアリダーゼ検出用の高感度な化学発光基質 NA-Star[®] も市販されており、インフルエンザウイルス検出に広く利用されているが、発光半減期が約 5 分と短く、測定には特殊な機器が必要である。

こうした背景に基づき、以下のような特性を併せ持つ新規なシアリダーゼ蛍光プローブの開発を行った。

(1) 培養液や組織染色液に拡散することなく、細胞無固定でも蛍光組織染色が可能。(2) 低い pH 条件下で

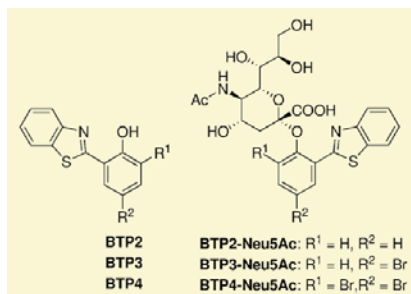


図 1. BTP 類の構造とシアリダーゼ基質

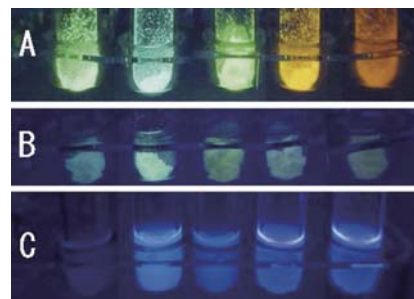


図 2. BTP 類の蛍光特性

(A) 異なる置換基を持つ BTP の固体状態
 (B) O-グリコシル化誘導体の固体状態
 (C) O-グリコシル化誘導体の溶液状態

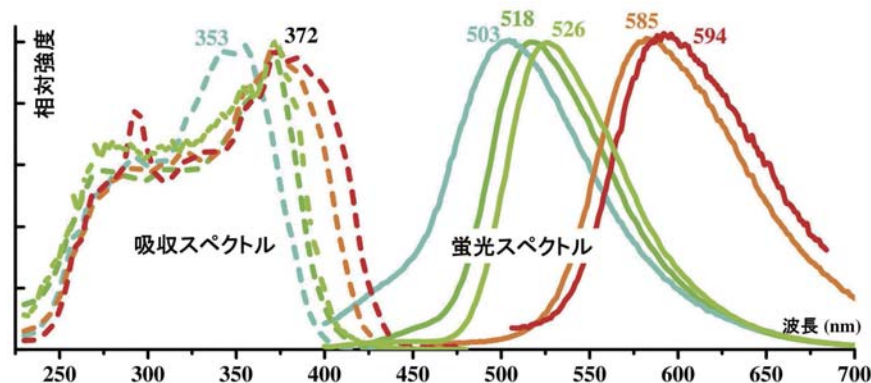


図 3. BTP 類の紫外可視、蛍光スペクトル

も強く発光する。(3) 高感度測定のために、オンオフが可能。(4) 励起光・自家吸収・細胞組織由来の蛍光などの影響を抑えるため、十分大きなストークスシフトを示す。(5) 蛍光波長を選択できる。以上のような特性を持つ蛍光色素として、2-benzothiazol-2-yl-phenol (BTP) 類に着目した (図 1)。BTP は有機 EL 材料として研究された過去をもつ古典的な分子であるが、構造的に水には極めて難溶であるとともに pH の影響を受けにくく、固体状態で蛍光性を示す (図 2A)。また発光過程が一般の蛍光色素とは異なるため、150 nm 以上という大きなストークスシフトを示し (図 3)、フェノール性水酸基上の置換基の有無によって蛍光性のオンオフ制御ができる (図 2B, C)。さらに目新しい骨格ではないため、誘導体も多く知られていて発色はかなり自由に選ぶことが出来る⁵⁾。

様々な蛍光波長を示す BTP-Neu5Ac

類を合成し、その内 BTP2 ~ 4 について応用も含めて検討した^{6,7)}。

シアリダーゼ検出

- ・グリコシル化された BTP 類は固体・溶液を問わず弱い蛍光性しか示さない。また、その蛍光も BTP 単独のものに比べると短波長であった (図 2B, C)。 *Arthrobacter ureafaciens* 由来、または *Clostridium perfringens* (*C. welchii*) 由来シアリダーゼで BTP-Neu5Ac を処理すると、蛍光強度が顕著に増加し、もとの BTP 由来の蛍光が回復した⁶⁾。
- ・Wistar 系雄性ラットの脳急性切片などを、BTP-Neu5Ac (10-1,000 μM) を含む緩衝液 (pH 7.3) 中でインキュベートし、組織染色を行った。脳白質領域に強い蛍光が観察された (図 4)。これらの蛍光は、シアリダーゼ阻害剤 (2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセチルノイラミン酸、DANA) を作用させることで消失

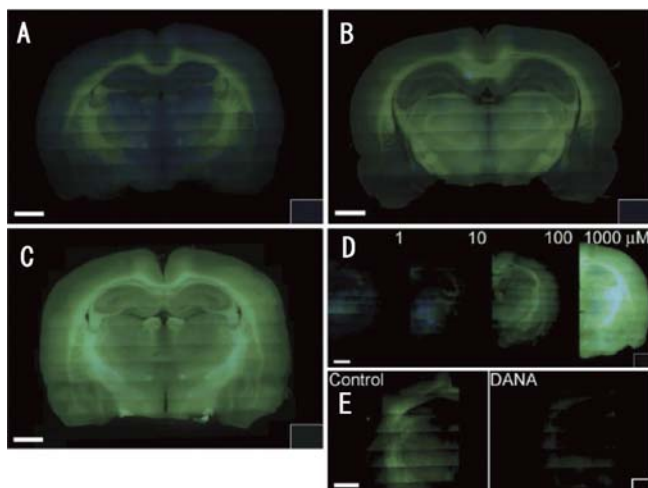


図4. ラット脳イメージング

A : BTP2-Neu5Ac, B : BTP3-Neu5Ac, C ~ E : BTP4-Neu5Ac

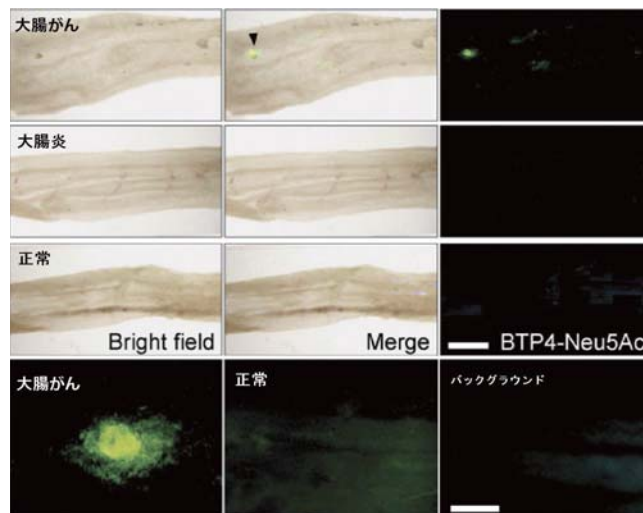


図5. マウス大腸がん BTP4-Neu5Ac 染色

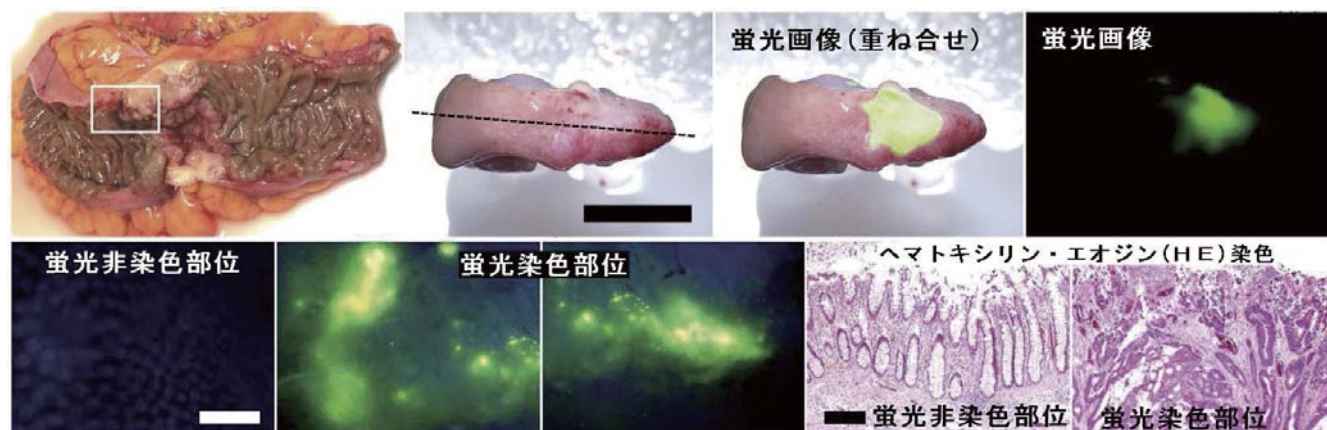


図6. ヒト大腸がん摘出標本 BTP4-Neu5Ac 染色

- した⁶⁾。
- ・BALB/c マウスに大腸がん細胞 (Colon26 NL-17) を同所移植して作製した大腸がんモデルマウスから1週間後に大腸を摘出し、BTP4-Neu5Ac で染色した結果、がん部位が強く染色された (図5)⁶⁾。
 - ・手術によって摘出されたヒト大腸がん組織 (UICC-T 分類、T3) を BTP4-Neu5Ac で染色したところ、ヒト大腸がんにおいてもがん部位が強く染色された。がん部位は、ヘマトキシリン・エオジン染色によって確認した (図6)⁶⁾。
 - ・インフルエンザウイルスをドットブロットした膜を BTP3-Neu5Ac 溶液

で反応後、紫外線照射によりウイルスのシアリダーゼ活性のドットを検出した。さらにインフルエンザ A 型ウイルス感染細胞を固定化せずに、培養上清を BTP3-Neu5Ac 含有培地に置換する簡便な操作のみで蛍光発色を確認した (図7A)。ザナミビル添加により感染細胞の蛍光染色は阻害されたことから、この蛍光発色はウイルスのシアリダーゼ活性に特異的であることを確認した。ウイルス感染価の指標やウイルス株の分離に利用されるブラックフォーミングアッセイにおいて、ウイルスブラックの蛍光発色も確認した (図7B)⁷⁾。

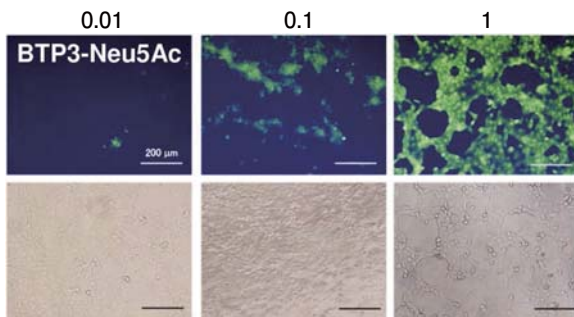
おわりに

BTP-Neu5Ac や BTP を培養細胞 (イヌ腎 MDCK 細胞) に添加し、細胞から流出する乳酸脱水素酵素量で細胞毒性を評価した結果、両者共に細胞毒性は検出されなかった。

これらの結果から BTP3-Neu5Ac は、インフルエンザウイルス感染細胞のシアリダーゼ活性を検出する高感度・迅速・簡便な実験用基質として有用性が高い。さらに、ラットにおいてシアリダーゼ活性を高感度、かつ特異的に検出できるとともに、がんの検出プローブとして有用である。

本プローブによって、組織学的にシアリダーゼ活性の詳細な組織分布を知

A インフルエンザ A 型ウイルス感染濃度 (MOI)



B インフルエンザ A 型ウイルスのブランクフォーミングアッセイ

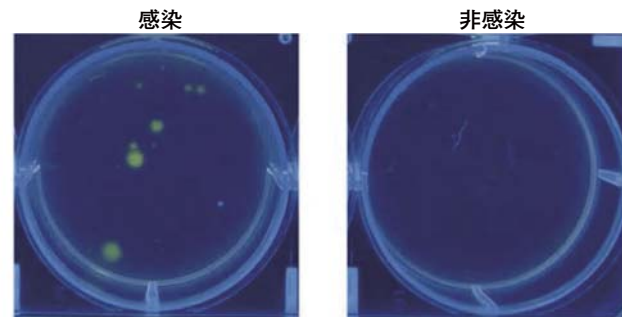


図7. ウイルスプラークの蛍光発色

ることが可能となった。BTP は分子サイズが比較的小さく、酵素の活性中心に比較的アクセスが容易であると考えられる。現在、他のウイルス検出法の開発⁸⁾やガラクトシダーゼ⁹⁾やアルカリフォスファターゼ¹⁰⁾をはじめとする他の分解酵素用の蛍光プローブの開発も行っている。

【参考文献】

- 1) Miyagi, T., Takahashi, K., Moriya, S., Hata, K., Yamamoto, K., Wada, T., Yamaguchi, K. and Shiozaki, K. : *Adv. Exp. Med. Biol.*, **749**, 257-267 (2012).
- 2) Miyagi, T. and Yamaguchi, K. : *Glycobiology*, **22**, 880-896 (2012).
- 3) Nomura, H., Tamada, Y., Miyagi, T., Suzuki, A., Taira, M., Suzuki, N., Susumu, N., Irimura, T. and Aoki, D. : *Oncol. Res.*, **16**, 289-297 (2006).
- 4) (a) Yang, Y. and Hamaguchi, K. : *J. Biochem.*, **87**, 1003 (1980). (b) Graber, M. L., Dillillo, D. C., Friedman, B. L. and Pastoriza-Munoz, E. P. : *Anal. Biochem.*, **156**, 202 (1986).
- 5) Anthony, K., Brown, R. G., Hepworth, J. D., Hodgson, K. W. and May, B. : *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2111-2117 (1984).
- 6) Minami, A., Otsubo, T., Ieno, D., Ikeda, K., Kanazawa, H., Shimizu, K., Ohata, K., Yokochi, T., Horii, Y., Fukumoto, H., Taguchi, R., Ishibashi, S., Sai, S., Inada, M., Takahashi, T., Oku, N. and Suzuki, T. : *PLOS ONE*, **9**, e81941 (2014).
- 7) Kurebayashi, Y., Takahashi, T., Otsubo, T., Ikeda, K., Takahashi, S., Takano, M., Agarikuchi, T., Matsuda, Y., Minami, A., Kanazawa, H., Uchida, Y., Saito, T., Kawaoka, Y., Yamada, T., Kawamori, F., Thomson, R., von Itzstein, M. and Suzuki, T. : *Sci. Rep.*, **4**, 4877 (2014).
- 8) (a) Takano, M., Takahashi, T., Agarikuchi, T., Kurebayashi, Y., Minami, A., Otsubo, T., Ikeda, K., Kanazawa, H. and Suzuki, T. : *Virology*, **464-465**, 206-212 (2014). (b) Takano, M., Takahashi, T., Agarikuchi, T., Kurebayashi, Y., Minami, A., Otsubo, T., Ikeda, K. and Suzuki, T. : *J. Virol. Methods*, **209**, 136-142 (2014). (c) Takahashi, T., Takano, M., Kurebayashi, Y., Agarikuchi, T., Suzuki, C., Fukushima, K., Takahashi, S., Otsubo, T., Ikeda, K., Minami, A. and Suzuki, T. : *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 1214-1219 (2015).
- 9) Otsubo, T., Minami, A., Fujii, H., Taguchi, R., Takahashi, T., Suzuki, T., Teraoka, F. and Ikeda, K. : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 2245-2249 (2013).
- 10) Takahashi, T., Otsubo, T., Ikeda, K., Minami, A. and Suzuki, T. : *Biol. Pharm. Bull.*, **37** (10), 1668-1673 (2014).

蛍光プローブ

蛍光光度法を用いて生体等の局所環境及びその変化を検出する物質。

シアリダーゼ

糖鎖末端からシアル酸を脱離させる糖加水分解酵素の一種であり、インフルエンザウイルスの感染、記憶やシナプス可塑性などの神経機能に関与する。また、細胞の分化・成長・アポトーシスに関与することが知られているとともに、大腸、腎臓、前立腺、卵巣などのがん細胞では、シアリダーゼが異常に高発現することが報告されている¹⁻³⁾。

ザナミビル

インフルエンザウイルスのシアリダーゼ特異的阻害剤。

Products

Wako

シアリダーゼの蛍光基質

BTP3-Neu5Ac-Na

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
024-18011	BTP3-Neu5Ac-Na F	細胞生物学用	1mg	11,000
020-18013			5mg	30,000

Refr... 2 ~ 10℃保存 F... 20℃保存 80... 80℃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、2016年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

反応性代謝物検出のための Presep[®] XenoScreen[™] 96well Plate を用いた試料前処理について

和光純薬工業株式会社 試薬化成品研究所 須藤 勇紀

医薬品は通常、動物実験や臨床試験を経て有効性と安全性が確認された後に、当局に承認された物質のみが製造・販売されます。臨床試験、上市後に発症する副作用は全副作用の約80%を占めますが、それら副作用は薬理作用から予測が可能であり、通常、用量を減量することにより回避することが可能です¹⁾。一方で特異体質性薬物毒性 (IDT: Idiosyncratic drug toxicity) と呼ばれ、動物実験や臨床試験では発見されることがほとんどなく、医薬品として上市後に多くの患者に使用されて初めて発現する重篤な副作用があります¹⁾。IDTの発生についてはいくつかの仮説が提唱されていますがその中でも医薬品の反応性代謝物が大きな要因のひとつであると考えられ、その評価が重要とされています^{2,3)}。

1. トラッピング試験について

トラッピング試験は肝ミクロソームなどの酵素源を医薬品候補化合物とトラッピング試薬共存下でインキュ

ベーションし、生成した反応性代謝物をトラッピング試薬付加体として捕捉し、LC/MSなどにより測定する方法です^{4,5)}。一般にトラッピング試薬としてグルタチオン (GSH) がよく使用されます^{6,7)}。しかし、グルタチオンエチルエステル体 (GSHEE) の方が検出感度良く分析できるとの報告もあり^{8,9)}、さらにグルタチオンエチルエステル安定同位体置換体 (GSHEE-d₅) を併用することで選択性を向上させることができます^{4,10)}。今回、トラッピング試験に必要な Buffer 類や GSHEE と GSHEE-d₅ が1つのチューブに小分けされた迅速分析が可能なキット XenoScreen[™] GSH-EE に合わせて、試料前処理用プレート Presep[®] XenoScreen[™] 96well Plate の使用例を紹介します。

2. 実験方法について

反応性代謝物の発生が既知の薬物クロザピン¹¹⁾を対象に Q1 Scan モードによる分析を行いました。実験フローを図1に示します。被験薬物溶液は

1 mmol/ℓ となるように調液します。前処理では 96well plate 用の吸引マニホールドを用いて減圧下で処理しました。LC/MS 条件を表1に示します。

3. 結果

TIC クロマトグラムの比較を図2に示します。保持時間 5.2 分付近にブランク溶液と被験薬物溶液とのピークに違いがあることが分かります。保持時間 5.2 分の MS スペクトルを図3に示します。クロザピンの代謝物 + GSHEE 及び GSHEE-d₅ の付加体は H 体が m/z : 660、D 体が m/z : 665 で検出されるとの報告¹¹⁾がありますのでこの結果は一致します。このように Presep[®] XenoScreen[™] 96well Plate を利用して反応性代謝物を検出することができます。次に参考データとして反応性代謝物¹¹⁾が既知であるアセトアミノフェン、オメプラゾール、ジクロフェナク、チクロピジン SIM モードで分析しました。薬物4種類の SIM クロマトグラムを図4に示します。クロザピンと同様に m/z 差 5 の

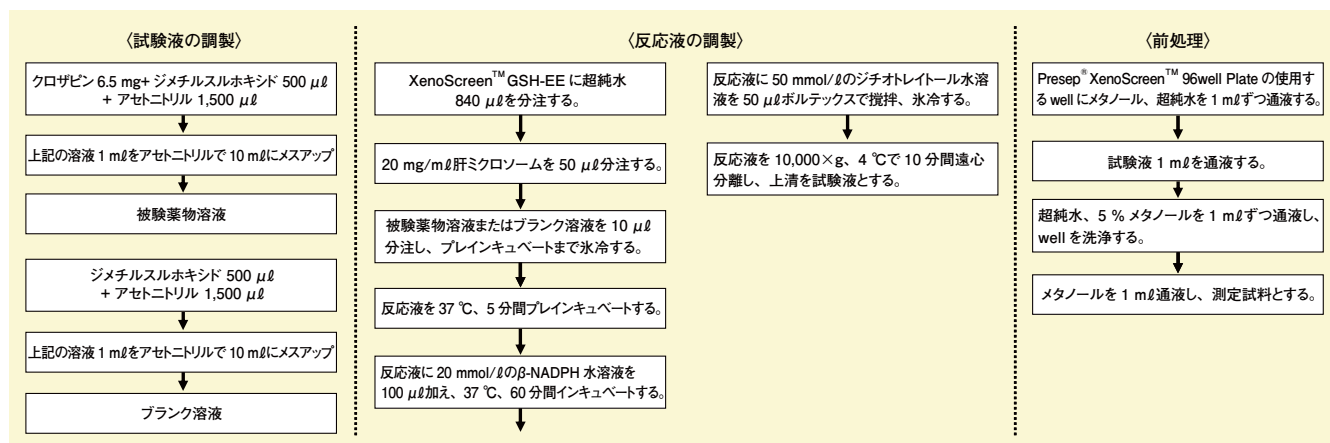


図1. 実験フロー

表1. LC/MS 条件

機器	Prominence LC-20A (島津製作所)
カラム	Wakopak [®] Ultra C18-3 Φ 2.0 mm × 50 mm
移動相A	0.05 % 塩酸水溶液
移動相B	0.05 % 塩酸 - アセトニトリル溶液
グラジエント条件	0min. (A : B=98 : 2) → 10min. (10 : 90) → 15min. (10 : 90) → 15.01min. (98 : 2) → 20min. (98 : 2)
流量	0.2 mL / min.
カラム温度	40℃
注入量	5 μℓ

機器	3200 QTRAP (SCIEX 社)
イオン化	ESI positive
測定モード	Q1 Scan
Curtain gas	20
Ion Spray Voltage	5500
Temperature	300
Ion Source gas 1	70
Ion Source gas 2	60

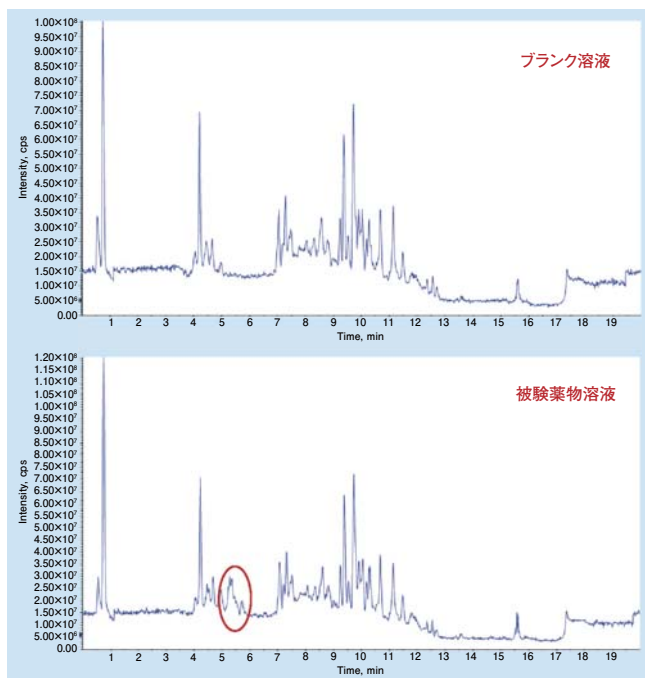


図2. TIC クロマトグラムの比較

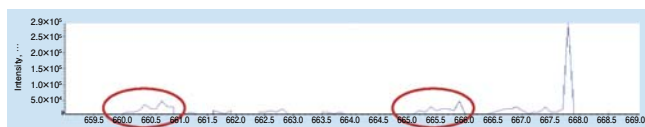


図3. 保持時間 5.2 分の MS スペクトル

反応性代謝物 + GSHEE 及び GSHEE-d₅ の付加体ピークを確認することができました。今回の検討結果が反応性代謝物の分析に貢献できれば幸いです。

【参考文献】

- 1) 山田久陽 他：日本薬理学雑誌，**127**(6)，473 (2006)。
- 2) 大江知之：日本薬理学雑誌，**134**(6)，338 (2009)。
- 3) Naito, S. et al. : *J. Toxicol. Sci.*, **32**(4), 329 (2007)。
- 4) 山岡俊和：和光純薬時報，**84**(1)，5 (2016)。
- 5) Ramirez-Molina, C. et al. : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **23**(22), 3501 (2009)。
- 6) Yan, Z. et al. : *Anal. Chem.*, **76**(23), 6835 (2004)。
- 7) Mutlib, A. et al. : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**(23), 3482 (2005)。
- 8) Soglia, J. R. et al. : *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**(1), 105 (2004)。
- 9) Wen, B. et al. : *J. Mass Spectrom.*, **44**(1), 90 (2009)。
- 10) Yamaoka, T. et al. : *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **76**, 83 (2015)。
- 11) 山岡俊知：特願 2011-113846，国際公開番号 WO2012/160798。

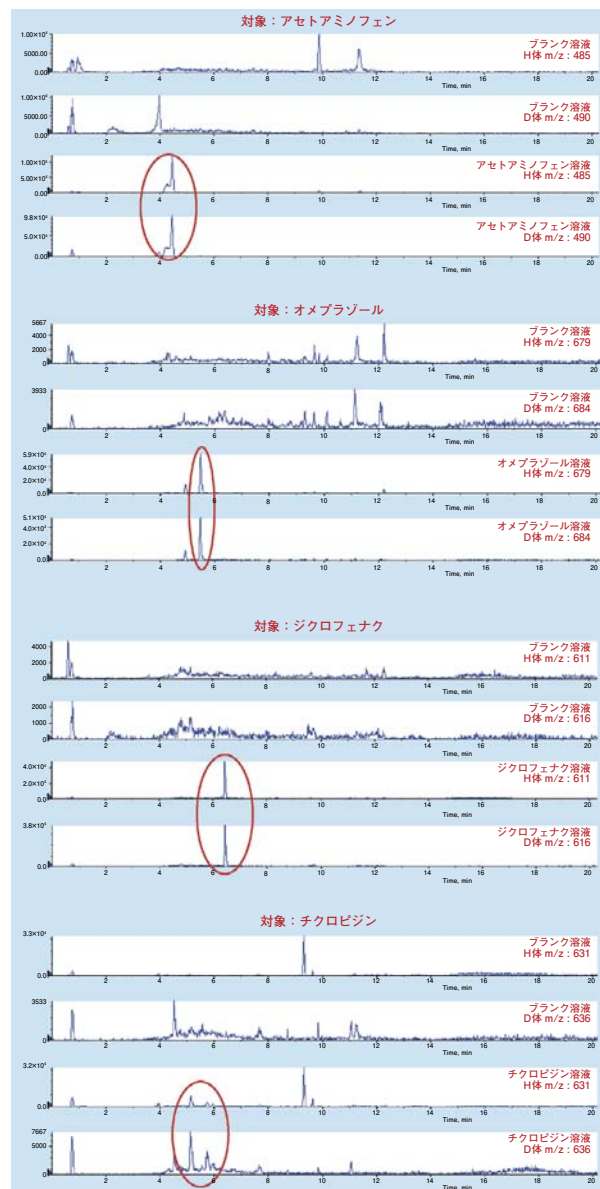


図4. 薬物4種類のSIM クロマトグラム

XenoScreen™

Wako

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
244-00961	XenoScreen™ GSH-EE (Tube type)	薬物動態研究用	12 本	24,000
292-35311	Presep® XenoScreen™ 96well Plate	薬物動態研究用	1 個	37,000

詳しくは、当社 HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/analysis/XenoScreenTubetype/index.htm>) をご参照下さい。

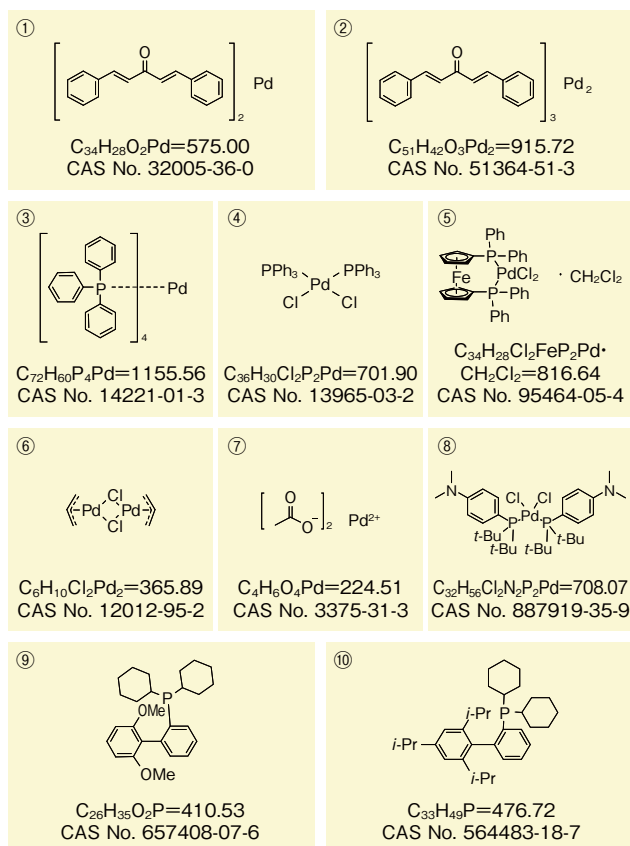
高品位・高活性触媒



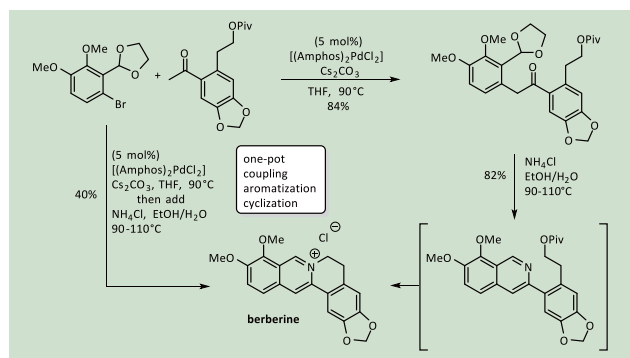
Johnson Matthey 社製 カップリング反応用貴金属触媒

この度、ジョンソン・マッセイ・ジャパン・インコーポレイテッドの協力のもと、同社の高活性な貴金属触媒の取扱いを始めました。

今回、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)のような汎用的なパラジウム触媒の他に Buchwald Ligand など主要 10 品目を取り揃えています。



反応例



【参考文献】

- Gatland, A. E., Pilgrim, B. S., Procopiou, P. A. and Donohoe, T. J.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 14555 (2014).

0価パラジウム

No.	コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 1	024-18871	Bis (dibenzylideneacetone) palladium (0) [Pd(dba) ₂]	有機合成用	1g	9,000
	020-18873			5g	28,000
NEW 2	202-20221	Tris (dibenzylideneacetone) dipalladium (0) [Pd ₂ (dba) ₃]	有機合成用	1g	9,500
	208-20223			5g	32,000
NEW 3	209-20231	Tetrakis (triphenylphosphine) palladium (0) [Pd(PPh ₃) ₄]	有機合成用	1g	6,000
	205-20233			5g	17,000
	207-20232			25g	65,000

2価パラジウム

No.	コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 4	041-34001	<i>trans</i> -Dichlorobis (triphenylphosphine) palladium (II)	有機合成用	1g	6,000
	047-34003			5g	18,000
	049-34002			25g	75,000
NEW 5	021-18881	[1,1'-Bis (diphenylphosphino) ferrocene]dichloropalladium (II), Dichloromethane Adduct [Pd(dppf)Cl ₂]·CH ₂ Cl ₂	有機合成用	1g	8,500
	027-18883			5g	28,000
NEW 6	045-34021	Di-μ-chlorobis[(η-allyl) palladium (II)]	有機合成用	1g	14,000
	041-34023			5g	50,000
NEW 7	164-27571	Palladium (II) Acetate	有機合成用	1g	8,500
	160-27573			5g	27,000
	162-27572			25g	照 会
NEW 8	048-34011	Dichlorobis[di- <i>t</i> -butyl (p-dimethylaminophenyl) phosphino]palladium (II)	有機合成用	250mg	10,000
	044-34013			1g	27,000
	042-34014			5g	照 会

ホスフィン

No.	コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 9	046-34051	2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl [S-Phos]	有機合成用	1g	12,000
	042-34053			5g	40,000
NEW 10	043-34061	2-(Dicyclohexylphosphino)-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl [X-Phos]	有機合成用	1g	9,500
	049-34063			5g	34,000

不斉合成酵素触媒



アマノリパーゼ

生体触媒の利用は、「不要なものを出さない」、「不要なものを作らない」というグリーンケミストリーの観点から注目される手法であり、光学活性な化合物を容易に得るための便利な手法の一つです。本品は、天野エンザイム社製不斉酵素触媒のリパーゼ、及びアシラーゼです。活性を保証していますので、安定した品質でご使用いただけます。

コード No.	品 名	Source	Activity	規格/メーカー	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 015-26311	D-Aminoacylase	<i>E. coli</i>	≥5.0 munits/g	有機合成用	10munits	13,000
NEW 011-26313	Amano	[F]			50munits	32,000
NEW 125-06541	Lipase AK	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	≥20,000 FIP units/g	有機合成用	10g	6,500
NEW 121-06543	Amano	[Ref]			50g	18,500
NEW 129-06561	Lipase AS	<i>Aspergillus niger</i>	≥12,000 units/g	有機合成用	10g	6,000
NEW 125-06563	Amano	[Ref]			50g	13,000
NEW 122-06551	Lipase AYS	<i>Candida cylindracea</i>	≥30,000 units/g	有機合成用	10g	4,500
NEW 121-06521	Amano	[Ref]			50g	10,500
NEW 121-06523	Lipase G Amano	<i>Penicillium camemberti</i>	≥50,000 units/g	有機合成用	10g	7,500
NEW 127-06523	50	[Ref]			50g	16,000

[次頁に続く]

Ref: 2 ~ 10℃保存 [F]: 20℃保存 [80]: 80℃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、2016年4月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

コード No.	品 名	Source	Activity	規格/メーカー	容量	希望納入価格 (円)
328-58341	Lipase M Amano	<i>Mucor</i>	—	ワコー	10g	3,300
324-58343	10	<i>javanicus</i>	—	ケミカル	50g	7,000
NEW 128-06531	Lipase PS	<i>Burkholderia</i>	≥23,000	有機合成用	10g	5,500
NEW 124-06533	Amano SD	<i>cepacia</i>	FIP units/g	—	50g	14,000
NEW 127-06501	Lipase PS	<i>Burkholderia</i>	≥500	有機合成用	5g	5,000
NEW 125-06502	IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth	<i>cepacia</i>	units/g	—	25g	12,000

薄層クロマトグラフ用



シリカゲルプレート

ご好評頂いています薄層クロマトグラフィー製品に分取用 PLC プレートを追加しました。

分取・精製用

■ PLCプレート-ワコー

シリカゲル 70PF₂₅₄ PLC プレート - ワコーは、分取用の PLC プレートです。分取したい試料の量によって使い分けができる層厚 1mm と 0.75mm の 2 種類のラインアップです。

分析・分取用

■ TLCプレート-ワコー

シリカゲル TLC プレート - ワコーは、細孔径 7nm (70 Å) の多孔質シリカゲルをガラス板上に均一に塗布した TLC プレートです。蛍光物質を添加してる 70F₂₅₄ タイプ、70FM タイプ、蛍光物質不含のシリカゲル 70 タイプの各種取扱ひしています。

コード No.	品 名	層厚	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
195-12871	Silicagel 70 PF ₂₅₄ Plate-Wako	0.75mm	薄層クロマト グラフ用	10枚 (20cm×20cm)	15,000
197-18193	Silicagel 70 F ₂₅₄ PLC Plate-Wako	1mm	薄層クロマト グラフ用	10枚 (20cm×20cm)	照 会
199-17813	Silicagel 70 F ₂₅₄ TLC Plate-Wako	0.25mm	薄層クロマト グラフ用	10枚 (5cm×10cm)	2,900
193-17811				25枚 (20cm×20cm)	16,800
197-17814				100枚 (5cm×20cm)	22,500
193-17816				200枚 (5cm×10cm)	25,500
196-17884	Silicagel 70 FM TLC Plate-Wako (広領域紫外線250-400nm対応)	0.25mm	薄層クロマト グラフ用	10枚 (5cm×10cm)	3,000
198-17883				100枚 (5cm×20cm)	24,500
192-17881				25枚 (20cm×20cm)	19,500
199-17874	Silicagel 70 TLC Plate-Wako	0.25mm	薄層クロマト グラフ用	10枚 (5cm×10cm)	2,700
191-17873				100枚 (5cm×20cm)	22,500
195-17871				25枚 (20cm×20cm)	16,000

局方一般試験法用



容量分析用標準液

当社では国内試薬メーカーで初めて局方一般試験法用の容量分析用標準液について (独)製品評価技術基盤機構・認定センター (IAJapan) が運営する ASNITE (製品評価技術基盤機構認定制度) 認定プログラムによって、標準物質生産者認定を取得し、認証標準物質の供給を開始しました。本品は、日本薬局方に準じた調製及び標定を行っています。

本品購入者には、不確かさが付与された認定シンボルを付した認証書を発行することができます (認証書発行に際しましてお客様の郵便番号、住所、宛先が必要となります)。

特 長

● 日本薬局方に準じた調製及び標定を行い、濃度を保証

● 認定シンボルを付した認証書を発行

認証書内容…特性値 (ファクター)、不確かさ、保証期限、測定年月日、発行日



コード No.	品 名	規 格	容量	希望納入価格 (円)
083-10025	2mol/ℓ Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
080-10035	1mol/ℓ Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800
087-10045	0.5mol/ℓ Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
084-10055	0.2mol/ℓ Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
082-10095	0.1mol/ℓ Hydrochloric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800
085-10105	0.05mol/ℓ Hydrochloric Acid	局方一般試験法用	500ml	2,200
196-17605	0.5mol/ℓ Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
190-17625	0.25mol/ℓ Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	2,200
193-17615	0.05mol/ℓ Sulfuric Acid*	局方一般試験法用	500ml	1,800
NEW 197-18115	0.1mol/ℓ Silver Nitrate Solution	局方一般試験法用	500ml	4,300
NEW 198-17925	0.1mol/ℓ Sodium Thiosulfate Solution	局方一般試験法用	500ml	2,100
NEW 191-17915	1mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	局方一般試験法用	500ml	1,900
NEW 194-17905	0.1mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	局方一般試験法用	500ml	1,900

*認証標準物質

Ref... 2 ~ 10℃ 保存 E... 20℃ 保存 C... 80℃ 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、2016 年 4 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

農薬混合標準液 新製品



水質管理目標設定項目対応 農薬混合標準液

平成 25 年 3 月 28 日の通知で水質管理目標設定項目に含まれる農薬類の分類見直しが行われ、120 種の農薬が対象農薬リスト掲載農薬類として分類されました。この内、標準検査法が設定されていなかった農薬類について、平成 27 年 3 月 25 日に新規試験法が告示されました。新規に告示された試験法の内、「別添方法 20 の 2」「別添方法 21」及び「別添方法 22」に対応した農薬混合標準液を販売しています。既存試験法に対応した製品と併せて、ぜひご利用下さい。

別添方法 20 の 2 対象成分※¹

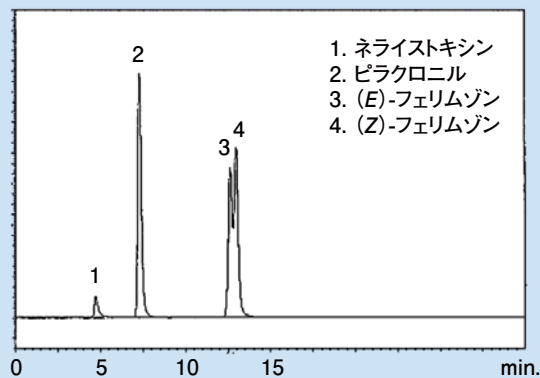
■ 農薬混合標準液 水質-6 (フェリムゾン※², ピラクロニル, ネライストキシン各 20 µg/ml メタノール溶液)

混合成分

フェリムゾン、ピラクロニル、ネライストキシン

分析例

■ LC/MS による分析



装置 : LC/MS-8040 (島津製作所製)
カラム : Wakosil-II 3C18HG 2.0mmΦ × 15cm
カラム温度 : 40℃
溶離液 : A) 5mmol/l 酢酸アンモニウム溶液
B) 5mmol/l 酢酸アンモニウム・メタノール溶液

時間 (分)	B (%)
0 ~ 25	50 ~ 70
25 ~ 30	70

流量 : 0.2ml/min.
検出器 : 質量検出器
イオン化法 : ESI 法

※ 1…本品成分以外の別添方法 20 の 2 対象成分は 63 種農薬混合標準液 水質-4 [コード No. 168-26011、164-26013] をご利用下さい。

※ 2…フェリムゾンは E 体 (Peak No.3) と Z 体 (Peak No.4) を合算で 20 µg/ml 含有しています。E 体と Z 体は各 10 µg/ml で製造していますが、比率は保管中に変化することがあります。

別添方法 21 対象成分

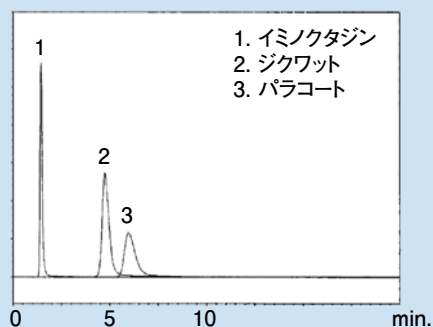
■ 農薬混合標準液 水質-7 (イミノクタジン, ジクワット, パラコート各 20 µg/ml 水溶液)

混合成分

イミノクタジン、ジクワット、パラコート

分析例

■ LC/MS による分析



装置 : LC/MS-8040 (島津製作所製)
カラム : Wakosil-II 5SIL-AQ 2.0mmΦ × 15cm
カラム温度 : 40℃
溶離液 : 酢酸アンモニウム緩衝液※³ 70 + アセトニトリル 30 (体積比)
流量 : 0.4ml/min.
検出器 : 質量検出器
イオン化法 : ESI 法

※ 3…酢酸アンモニウム 9.45g + 900ml 水 + 酢酸 (→ pH 3.6) + 水 (→ 1 l)

本品を測り取る際の器具及び容器は、ポリテトラフルオロエチレンまたはポリプロピレン製のものをご使用下さい。

■ イミノクタジン、ジクワット、パラコートの固相抽出 〈Presep® RPP-WCX を用いた固相抽出条件〉



〈添加回収率 (%)〉

イミノクタジン	ジクワット	パラコート
80.5	99.8	88.5

Presep® RPP-WCX を用いた水道水中の上記農薬に関する分析例の詳細は「和光純薬時報 Vol.83 No.4 (2015)」テクニカルレポートにてご確認ください。

当社 HP → ジャーナル → 和光純薬時報 → Vol.83 No.4 (2015.1)

[次頁に続く]

別添方法22対象成分

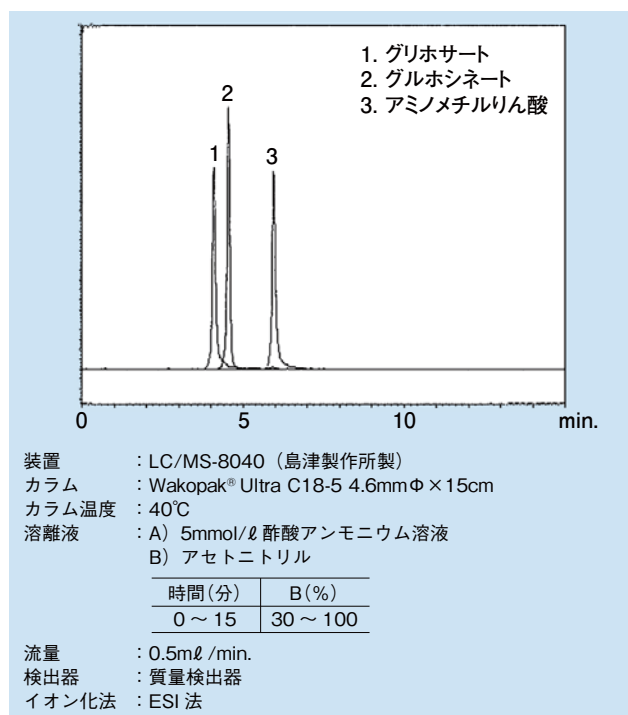
■ 農薬混合標準液 水質-8(グリホサート, グルホシネート, AMPA各20 μ g/ml 水溶液)

混合成分

グリホサート, グルホシネート, アミノメチルりん酸(AMPA)

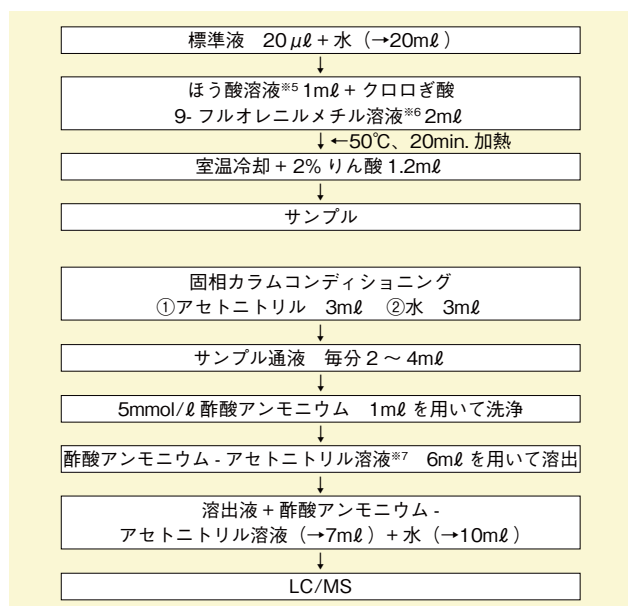
分析例

■ LC/MSによる分析※4



※4…分析サンプルは前処理として下記条件で誘導体化をしています。

〈Presep®-C C18(ODS)(Short)を用いたサンプル調製例〉



※5…四ほう酸ナトリウム十水和物 5g + 水 80ml → 水浴中加熱溶解→冷却 + 水 (→100ml)

※6…クロロギ酸 9-フルオレニルメチル 0.1g + アセトニトリル (→100ml)

※7…5mmol/l 酢酸アンモニウム溶液 60 + アセトニトリル 40 (体積比)

本製品を測り取る際の器具及び容器は、ポリテトラフルオロエチレンまたはポリプロピレン製のものをご使用下さい。

コード No.	品 名	対応試験法	規格	容量	希望納入価格 (円)
NEW 168-27611	農薬混合標準液 水質-6 (フェリムゾン, ピラクニル, ネライストキシン各 20 μ g/ml メタノール溶液) [F°][II][III]	別添方法 20の2	残留農薬試験用	1ml×5A	18,000
NEW 164-27613				1ml	9,000
NEW 162-27631	農薬混合標準液 水質-7 (イミノクタジン, ジクワット, パラコート各 20 μ g/ml 水溶液) [Ref][II][III]	別添方法 21	残留農薬試験用	1ml×5	照 会
NEW 168-27633				1ml	照 会
NEW 169-27641	農薬混合標準液 水質-8 (グリホサート, グルホシネート, AMPA各 20 μ g/ml 水溶液) [Ref]	別添方法 22	残留農薬試験用	1ml×5	20,000
NEW 165-27643				1ml	10,000

関連商品

混合標準液

コード No.	品 名	対応試験法	規格	容量	希望納入価格 (円)
164-26633	66種農薬混合標準液 水質-1-2 (各 20 μ g/ml アセトン溶液) [F°][II][III]	別添方法 5	残留農薬試験用	1ml×5A	59,000
168-26631				1ml	19,000
163-23881	15種農薬混合標準液 水質-2 (各 20 μ g/ml アセトン溶液) [F°][II][III]	別添方法 5	残留農薬試験用	1ml×5A	30,000
169-23883				1ml	10,000
160-23891	28種農薬混合標準液 水質-3 (各 20 μ g/ml アセトニトリル溶液) [F°][II][III]	別添方法 18	残留農薬試験用	1ml×5A	35,000
166-23893				1ml	11,000
164-26013	63種農薬混合標準液 水質-4 (各 20 μ g/ml アセトニトリル溶液) [F°][II][III]	別添方法 20の2	残留農薬試験用	1ml×5A	60,000
168-26011				1ml	20,000
167-26003	48種農薬混合標準液 水質-5 (各 20 μ g/ml アセトン溶液) [F°][II][III]	別添方法 5の2	残留農薬試験用	1ml×5A	45,000
161-26001				1ml	18,000

前処理カラム

コード No.	品 名	規 格	容量	希望納入価格 (円)
292-34831	Presep® RPP-WCX (60mg/3ml)	試料前処理用	10本×10	45,000
297-47451	Presep®-C C18(ODS)(Short)	試料前処理用	10個×5	25,000

分析用カラム

コード No.	品 名	タイプ	容量	希望納入価格 (円)
237-50243	Wakopak® Wakosil- II	W	1本	47,000
231-50241	3C18HG ϕ 2.0mm×150mm	D	1本	47,000
238-63963	Wakopak® Wakosil- II 5SIL-	W	1本	41,000
232-63961	AQ ϕ 2.0mm×150mm	D	1本	41,000
235-02651	Wakopak® Ultra C18-5 ϕ 4.6mm×150mm	W	1本	48,000

各種混合標準液の成分などの詳細は siyaku.com でご確認いただけます。

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

品目追加



ポジティブリスト関連標準品

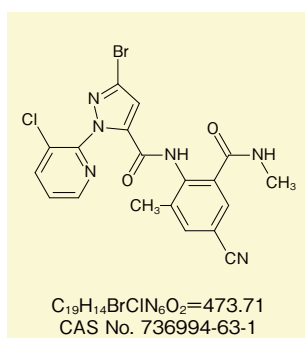
ポジティブリスト関連の残留農薬試験用標準品及びHPLC用動物用医薬品標準品の追加品目をご紹介します。品目は順次追加しています。

■ 農薬標準品

■ シアントランニプロール標準品

化学名：3-Bromo-1-[(3-chloro-2-pyridyl)-4'-cyano-2'-methyl-6'-(methylcarbamoyl)pyrazole-5-carboxanilide]

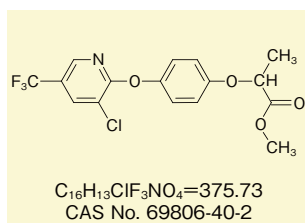
別 名：Cyazypyr
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末
備 考：殺虫剤



■ ハロキシホップメチル標準品

化学名：Methyl 2-[4-[[3-Chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]oxy]phenoxy]propanoate

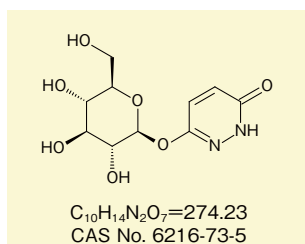
別 名：Verdict
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末又は塊
備 考：除草剤



■ マレイン酸ヒドラジド-O-β-グルコシド標準品

化学名：6-(β-D-Glucopyranosyloxy)-3(2H)-pyridazinone

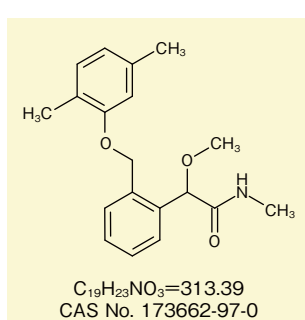
含量 (qNMR)：90.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末



■ マンデストロビン標準品

化学名：(RS)-2-Methoxy-N-methyl-2-[(2,5-xylyloxy)-o-tolyl]acetamide

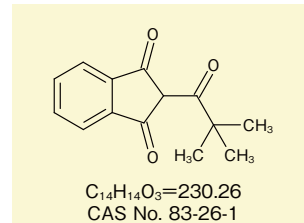
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色、結晶性粉末～粉末
備 考：殺菌剤



■ ピンドン標準品

化学名：2-(Trimethylacetyl)-1,3-indandione

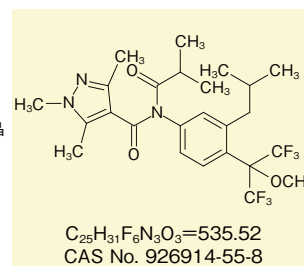
別 名：Pival
含量 (HPLC)：98.0% 以上
外 観：黄色、結晶性粉末～粉末
備 考：殺鼠剤



■ ビフルブミド標準品

化学名：3'-Isobutyl-N-isobutryl-1,3,5-trimethyl-4'-[2,2,2-trifluoro-1-methoxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]pyrazole-4-carboxanilide

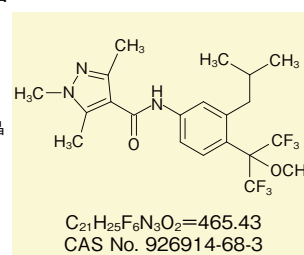
含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色～わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末～粉末
備 考：ダニ駆除剤



■ ビフルブミド代謝産物 B 標準品

化学名：3'-Isobutyl-1,3,5-trimethyl-4'-[2,2,2-trifluoro-1-methoxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]pyrazole-4-carboxanilide

含量 (qNMR)：98.0% 以上
外 観：白色～わずかにうすい黄褐色、結晶性粉末～粉末



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
NEW 031-24671	Cyantraniliprole Standard	残留農薬試験用	100mg	30,000
NEW 088-10271	Haloxyp-methyl Standard	残留農薬試験用	100mg	14,000
NEW 132-18561	Maleic Hydrazide-O-β-glucoside Standard	残留農薬試験用	100mg	25,000
NEW 139-18571	Mandestrobin Standard	残留農薬試験用	100mg	30,000
NEW 169-27521	Pindone Standard	残留農薬試験用	100mg	12,000
NEW 163-27541	Pyflubumide Standard	残留農薬試験用	50mg	30,000
NEW 160-27551	Pyflubumide Metabolite B Standard	残留農薬試験用	50mg	30,000

その他のポジティブリスト関連品目は下記よりご参照下さい。
当社 HP→カテゴリーから選ぶ→分析・環境→食品分析→01.残留農薬・動物用医薬品（ポジティブリスト制度）

高感度・高分解能 MS での測定に Wako

QToFMS 用溶媒

高感度・高分解能 MS を用いる測定に使用できる不純物の少ない溶媒として、QToFMS 用溶媒を商品化しました。

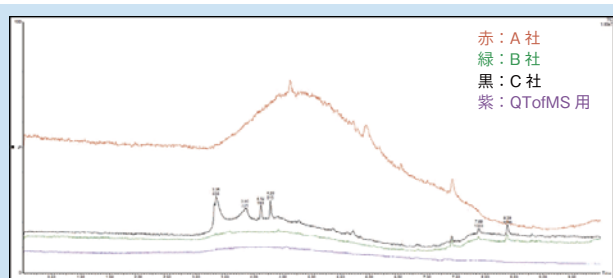
高感度・高分解能 LC/MS による測定は、さまざまな要因による不純物ピークによって、バックグラウンドノイズが高くなってしまうことがあります。本品はカラム接続によるグラジエント測定を行い、多変量解析によって不純物ピークを確認しています。

特 長

- QToFMS による適合性試験実施
 - ・フルスキャンによる幅広い質量範囲の保証 (質量範囲 m/z 50 ~ 3,000)
 - ・測定データを多変量解析により保証
- カラム接続によるグラジエント測定 (UHPLC 測定)
- パーティクル保証
- 使い切りやすい 500mℓ 包装



スキャン測定に最適!!



測定装置 : Waters ACQUITY UPLC H-Class
 カラム : Wakopak® Ultra C18-2, 2.1mmφ × 5cm
 溶離液 : QToFMS 用 [超純水 : AcCN] [グラジエント]
 検出器 : UV 210nm
 MS 装置 : 飛行時間型質量分析計 (Waters Xevo G2-X2)
 イオン化法 : ESI
 質量範囲 : m/z 50 ~ 3,000
 極性 : positive

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
018-26225	Acetonitrile	QToFMS 用	500mℓ	5,000
212-01601	Ultrapure Water	QToFMS 用	1ℓ	2,400
164-27515	2-Propanol	QToFMS 用	500mℓ	3,800
130-18545	Methanol	QToFMS 用	500mℓ	1,800

食品分析用

Wako

リパーゼ H, from *Candida cylindracea*

リパーゼ S, from *Candida cylindracea*

リパーゼは、脂質 (トリグリセリド) を脂肪酸とグリセリンに分解する酵素です。食品中の脂質試験などにもご使用頂けます。ご活用下さい。

特 長

- 位置特異性を持たず、油脂を脂肪酸とグリセロールにほぼ完全に加水分解
- リパーゼ H は高いコレステロールエステラーゼ活性をもつ

製品概要

- 起源 : *Candida cylindracea*
- 活性 : リパーゼ H 360 units/mg 以上
 リパーゼ S 30 units/mg 以上

【参考文献】

1) Koyama, K. et al.: *J. Oleo Sci.*, **64**(10), 1057(2015).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
129-06441	Lipase H, from <i>Candida cylindracea</i>	食品分析用	1g	5,000
127-06442			25g	15,000
126-06451	Lipase S, from <i>Candida cylindracea</i>	食品分析用	1g	5,000
124-06452			25g	15,000

関連商品

コード No.	メーカーコード	品 名	規格/メーカー	容 量	希望納入価格 (円)
—	B686657	3-Bromo-1,2-propanediol- d_5	TRC	1mg	45,000
—	C379690	2-Chloro-1,3-propanediol	TRC	25mg	28,500
—	C379692	2-Chloro-1,3-propanediol- d_5	TRC	25mg	45,000
031-21511	—	3-Chloro-1,2-propanediol Dioleate Standard	食品分析用	100mg	20,000
071-05711	—	Glycidyl Oleate Standard	食品分析用	100mg	20,000
137-16051	—	3-MCPD Standard	食品分析用	100mg	8,000

TRC : Toronto Research Chemicals Inc.

Ref: 2 ~ 10℃ 保存 F: 20℃ 保存 C: 80℃ 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、2016 年 4 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

タンパク質のメンブレンへの転写効率を改善 Wako

アクアブロット™ 10×高効率転写バッファー

本品は、従来の Towbin (トリス・グリシン) 系バッファーよりも転写効率に優れた 10 × 転写バッファーです。脱イオン水で 10 倍希釈し、ご使用下さい。調製時にメタノールを加える必要はありません。

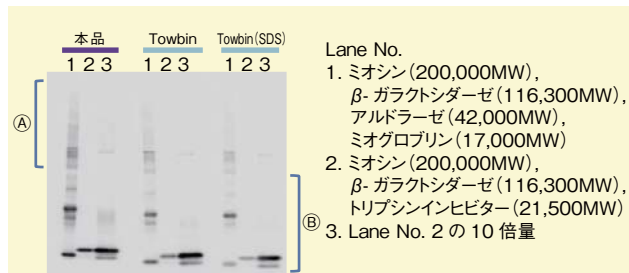
ご注意：PVDF メンブレンの親水化処理にはメタノールが必要です。

特 長

- 従来よりも高い転写効率
- 転写バッファーを変えるだけ
- メタノール添加不要

デ ー タ

■ 従来の転写バッファーとの比較 一定電圧条件ー



〈条件〉

■ 本品

アクアブロット™ 10× 高効率転写バッファー (10 倍希釈)

■ Towbin buffer

25mmol/ℓ Tris, 192mmol/ℓ Glycine with 10v/v% Methanol

■ Towbin buffer (SDS)

25mmol/ℓ Tris, 192mmol/ℓ Glycine, 0.05w/v% SDS with 10v/v% Methanol

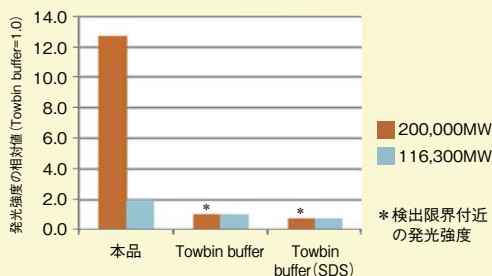
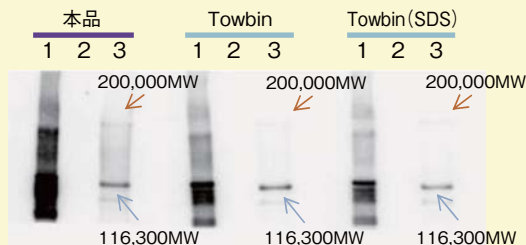
ゲル：スーパーセップ™ エース、10-20%、17 ウェル [コード No. 198-15041]

メンブレン：クリアトランス® SP PVDF メンブレン、疎水性、0.2μm

[コード No. 033-22453]

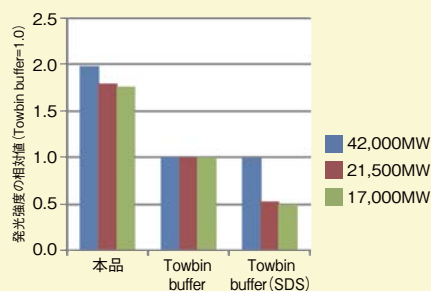
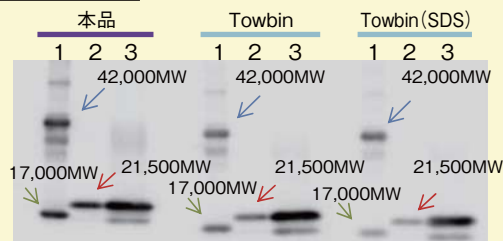
化学発光試薬：イムノスター® ゼータ [コード No. 295-72404]

① 高分子量領域ー露光時間30秒ー



* 検出限界付近の発光強度

② 低分子量領域ー露光時間1秒ー



25V 定電圧で 60 分間 (セミドライ式) 転写を行い、発光強度の値が適切に比較できる露光時間を選び、各タンパク質間の発光強度値を読み取り相対的に表した。

高分子量タンパク質は長い露光時間を必要とするため、低分子量タンパク質のシグナルを読み取った後、PVDF メンブレンを切り取り別途測定した。

定電圧条件でアクアブロット™ 10×高効率転写バッファーは、高分子量領域、低分子量領域どちらにおいても Towbin 及び Towbin (SDS) バッファーよりも高い転写効率を示した。

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格 (円)
019-26211	AquaBlot™ 10×High Efficiency Transfer Buffer	プロッティング用	30ml (300ml 分)	2,000
015-26213			1ℓ (10ℓ 分)	13,500

関連商品

その他転写バッファー

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格 (円)
012-25101	AquaBlot™ 10×Tris-Glycine Transfer Buffer 10×組成: 250mmol/ℓ Tris, 1.92mol/ℓ Glycine メタノールと脱イオン水で希釈し、ご使用下さい。	プロッティング用	1ℓ (10ℓ 分)	7,200
019-25111	AquaBlot™ 10×Tris-Glycine-SDS Transfer Buffer 10×組成: 250mmol/ℓ Tris, 1.92mol/ℓ Glycine, 0.5w/v% SDS メタノールと脱イオン水で希釈し、ご使用下さい。	プロッティング用	1ℓ (10ℓ 分)	7,800

プロッティング用メンブレン

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格 (円)
032-22663	ClearTrans® Nitrocellulose Membrane, 0.2μm	プロッティング用	1巻 (30cm×3m)	28,500
033-22453	ClearTrans® SP PVDF Membrane, Hydrophobic, 0.2μm	プロッティング用	1巻 (26cm×3.3m)	37,000

洗浄バッファー

コード No.	品 名	規格	容量	希望納入価格 (円)
161-25521	1×PBS (-)-T	生化学用	5ℓ	13,000
163-24361	PBS-T, pH 7.4 (×10)	プロッティング用	1ℓ	9,000
206-19131	1×TBS-T	生化学用	5ℓ	13,000
207-18061	TBS-T, pH 7.4 (×10)	プロッティング用	1ℓ	9,200

Ref... 2 ~ 10℃ 保存 [E]... 20℃ 保存 [80]... 80℃ 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、2016 年 4 月時点での情報です。最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

品目追加



タンパク質還元剤

当社では、タンパク質のSH基の保護やジスルフィド結合の切断に使用される還元剤を取り揃えています。新たに溶液タイプを追加しました。

■ 1mol/ℓ (±)-ジチオトレイトール(DTT)溶液

1mol/ℓ に調製した(±)-ジチオトレイトール水溶液です。0.2μmフィルターろ過済みです。開封後はなるべく速やかにご使用下さい。

■ 0.5mol/ℓ TCEP溶液, 中性

中性に調整した0.5mol/ℓ TCEP水溶液 (TCEPとして) です。チオールフリーの還元剤です。pH調整には水酸化ナトリウムを使用しています。0.2μmフィルターろ過済みです。開封後はなるべく速やかにご使用下さい。



1ml 包装



1ml × 10 包装

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
044-33871	1mol/ℓ (±)-Dithiothreitol (DTT) Solution	生化学用	1ml	3,400
040-33873			1ml×10	20,000
207-20151	0.5mol/ℓ TCEP Solution, Neutral pH	生化学用	1ml	3,500
203-20153			1ml×10	22,000

関連商品

その他の還元剤

コード No.	品 名	含 量	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
137-06862	2-Mercaptoethanol	98.5%以上 (cGC)	生化学用	25g	2,100
133-06864				100g	5,000
139-06861				2ml×5A	5,200
041-08971	(±)-Dithiothreitol [DTT]	97.0%以上 (Titration)	SH基酸化防止用	100mg	2,200
047-08973				1g	3,600
045-08974				5g	9,500
041-08976				10g	17,000
049-08972				25g	33,500
207-09232	3-Mercapto-1,2-propanediol	98.0%以上 (Titration)	和光特級	25ml	2,100
201-09235				500ml	13,000
209-19861	TCEP Hydrochloride	98.0%以上 (Titration)	生化学用	1g	6,000
205-19863				10g	35,000
203-19864				50g	140,000

GPCR/Gq ファミリー選択的阻害剤

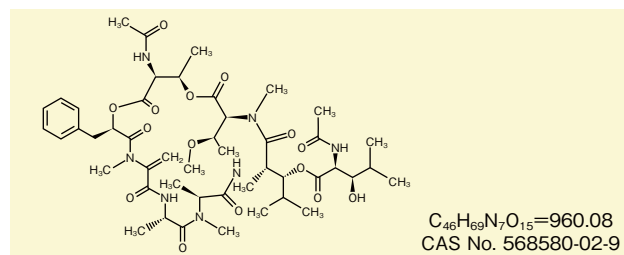


YM-254890

YM-254890は、土壌細菌から単離された環状デプシペプチドです。Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) を構成するGαサブユニットのうち、カルシウムイオン濃度上昇に関与するGqファミリー (Gq, G11及びG14) を特異的に阻害します。構造解析によりGqファミリーのGDP/GTP交換反応を阻害することでGタンパク質の活性化を阻害していることが報告されています。

特 長

- Gq, G11, G14を介したシグナル伝達を特異的に阻害
- 膜透過性低分子化合物
- *in vivo*, *in vitro* 両方の系で作用



【参考文献】

1) Nishimura, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107** (31), 13666 (2010).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
257-00631	YM-254890	細胞生物学用	1mg	30,000
253-00633			10mg	照 会

安価・高品質



ストレプトアビジン

ストレプトアビジンは、*Streptomyces avidinii* より産生されるビオチン結合性タンパク質です。卵白アビジンに比べ、非特異反応が低く抑えられています。ビオチンと特異的に結合する性質を利用して、目的タンパク質の高感度検出 (イムノブロットング、免疫組織染色、ELISA など) に用いられます。

- 外観：白色～うすい褐色、結晶性粉末
- ビオチン結合能：10 ~ 20units/mg
- 含量 (SDS-PAGE)：90.0% 以上

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
198-17861	Streptavidin	免疫化学用	1mg	5,000
194-17863			5mg	12,000
192-17864			25mg	45,000

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
190-17441	Streptavidin, Peroxidase Conjugated, Solution	細胞生物学用	1ml	45,000

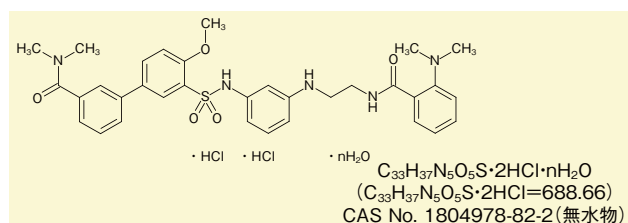
非ペプチド性オレキシン2受容体アゴニスト Wako

YNT-185・2HCl

YNT-185・2HClは、非ペプチド性のオレキシン2受容体(OX₂R)アゴニストです。オレキシンは神経伝達を司るペプチドの一つで、視床下部に存在するオレキシン産生神経から分泌されます。オレキシン受容体には、1型、2型の2種類の受容体が存在し、特に2受容体は、睡眠・覚醒の制御に重要であり、脳内のオレキシン欠乏が、日中に耐え難い眠気を生じる睡眠障害であるナルコレプシーの原因であることが分かっています。ナルコレプシーモデルマウスの脳室内にオレキシンを投与することにより、症状が改善されることが報告されていますが、オレキシンはペプチドのため、血液脳関門を通過できず、脳内に投与しない限り、治療効果は期待できません。

YNT-185・2HClは、マウス脳室内投与、腹腔内投与のいずれの場合においても、覚醒時間の延長効果を示し、またナルコレプシーモデルマウスの症状を改善すると報告されています。

- 外観：わずかにうすい褐色、結晶性粉末～粉末
- 含量(HPLC)：98.0%以上
- 溶解性：生理食塩水(pH 2.4) …1.3mol/ℓ¹⁾
- EC₅₀：OX₂R…0.028 μmol/ℓ (free base)¹⁾
OX₁R…2.750 μmol/ℓ (free base)¹⁾



【参考文献】

- 1) Nagahara, T., Saitoh, T., Kutsumura, N., Irukayama-Tomobe, Y., Ogawa, Y., Kuroda, D., Gouda, H., Kumagai, H., Fujii, H., Yanagisawa, M. and Nagase, H.: *J. Med. Chem.*, **58**, 7931 (2015).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
254-00641	YNT-185 Dihydrochloride	細胞生物学用	5mg	14,000
250-00643	Hydrate		100mg	140,000

関連商品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
オレキシン				
159-03161	Orexin A (Human)	細胞生物学用	0.1mg	20,000
156-03171	Orexin B (Human)	細胞生物学用	0.1mg	14,500
153-03181	Orexin B (Rat, Mouse)	細胞生物学用	0.1mg	14,500
オレキシン受容体アゴニスト				
013-24771	[Ala ¹¹ , D-Leu ¹⁵]-Orexin B	細胞生物学用	1mg	53,000
194-17221	SB-668875	細胞生物学用	1mg	65,000

その他、オレキシン関連試薬は当社HP (<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/product/life/Orexin/index.htm>) をご参照下さい。

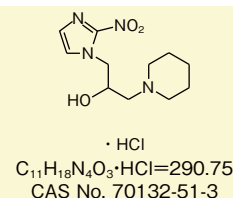
低酸素応答研究に Wako

ピモニダゾール塩酸塩

ピモニダゾールは、2-ニトロイミダゾール誘導体で、低酸素状態の生きた細胞に取り込まれ結合する性質があるため、多くの研究において、組織や細胞の低酸素領域の検出に利用されています。

低酸素状態は、多くの疾患に関連していると言われており、特に固形腫瘍の内部は低酸素状態にあることが知られています。また、近年では、造血幹細胞の増殖能や分化能への関連も報告されています。

- 外観：白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末
- 水溶状：試験適合
- 含量(HPLC)：95.0%以上



【参考文献】

- 1) Parmar, K. et. al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 5431 (2007).
- 2) Ralph, E. et. al.: *Cancer Res.*, **58**, 3547 (1998).
- 3) 小林稔、原田浩：生化学, **85**, 187 (2013).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
161-27461	Pimonidazole Hydrochloride	生化学用	50mg	27,000
167-27463			100mg	47,000

新サイト開設のご案内

細胞培養関連商品紹介サイト

Culture-wako.com

～カルチャーワコードットコム～

細胞培養関連商品の紹介サイト Culture-wako.com (カルチャーワコードットコム) を開設しました。

当社にて販売しているお勧め細胞培養関連商品をカテゴリーごとにご紹介しています。製品の種類や、細胞の分類でお勧め商品をご覧頂くことができます。

また、トピックスにて、キャンペーンや新発売情報を随時発信しています。是非、ご覧下さい。<http://culture-wako.com/>



プロテインフリー心筋細胞誘導化合物 Wako

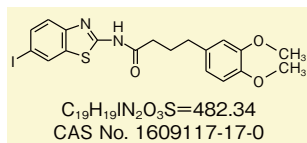
KY03-I

ヒト ES/iPS 細胞を心筋細胞へ分化誘導させる化合物として KY02111 が報告されています¹⁾。KY03-I は、KY02111 より低濃度 (3 $\mu\text{mol}/\ell$) で効率良く心筋細胞に分化誘導できる化合物です。

ヒト ES/iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導法は複数報告されていますが、それらの分化誘導法には血清や動物由来のタンパク質、高価なサイトカインが使用されています。そのため、動物由来物による感染リスクやコストといった点が懸念されています。しかし、本品を含む KY 化合物を用いると血清やタンパク質、サイトカインを使用せずに、従来法と比較して効率良くヒト ES/iPS 細胞を心筋細胞へ分化誘導できます。

本品は、細胞培養用途に使用しやすいようにエンドトキシン及びマイコプラズマ試験を実施しています。

- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- 溶解性 : DMSO (5mg/ml)
- エンドトキシン試験 : 10 EU/g 未満
- マイコプラズマ試験済み



【参考文献】

- 1) Minami, I., Yamada, K., Otsuji, T. G., Yamamoto, T., Shen, Y., Otsuka, S., Kadota, S., Morone, N., Barve, M., Asai, Y., Tenkova-Heuser, T., Heuser, J. E., Uesugi, M., Aiba, K. and Nakatsuji, N. : *Cell Rep.*, **2**, 1448 (2012).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
032-24721	CultureSure® KY03-I 	細胞培養用	2mg	12,000
038-24723			10mg	50,000
036-24724			25mg	100,000
032-24726			100mg	340,000

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
038-23101	CultureSure® CHIR99021   	細胞培養用	1mg	12,000
034-23103			5mg	40,000
032-23104			100mg	照 会
038-24681	CultureSure® 10mmol/ℓ CHIR99021 DMSO Solution, Animal-derived-free    	細胞培養用	300 $\mu\ell$	25,000
029-16241	6-Bromoindirubin-3'-oxime 	細胞生物学用	1mg	20,000
247-00951	XAV939	細胞生物学用	5mg	13,000
243-00953			25mg	52,000
241-00954			100mg	180,000

マスターファイルに登録済み Wako

CKI-7 二塩酸塩, MF

本品は、培地添加物として2016年3月に原薬等登録原簿 (マスターファイル: MF) に登録されました。製造工程や分析試験のバリデーション、要因変更管理を実施し、恒常的に安定した品質の製品を得られる体制で製造しています。

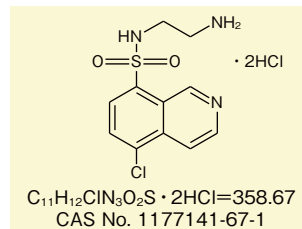
CKI-7は、CK 1阻害剤です。SB 431542と Y-27632と共使用することで、血清フリー、フィーダーフリー条件下でヒト ES細胞とヒト iPS細胞を網膜前駆細胞に分化誘導すると報告されています。

特 長

- MF 登録済み*
登録番号: 228MF40005
- アニマルフリー
動物由来原料不使用の化学合成品
- 国産
合成～包装までをすべて日本国内で実施
- 高い品質安定性
連続複数ロット合格実績

製品概要

- 外観: 白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末
- 含量 (HPLC) : 98.0% 以上
- 溶解性 : 水に可溶
- 水分 : 0.5% 以下
- エンドトキシン : 0.05 EU/mg 未満
- 生菌数試験、マイコプラズマ試験済み



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
038-24821	CKI-7 Dihydrochloride, MF 	細胞培養用	5mg	27,000
034-24823			25mg	96,500

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
259-00613	Y-27632, MF (MF登録番号: 227MF40013) 	細胞培養用	5mg	50,000
257-00614			25mg	200,000

※原薬等登録原簿 (MF) への登録は、厚生労働省 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構) による、品質及び安全性に関する確認または評価が行われたことを意味するものではありません。

初代神経細胞の培養が上手い方にお困りの方に **Wako** 神経細胞用培地

本品は、ラット、マウスの初代神経細胞用無血清培地です。中枢神経細胞の培養に最適化されています。この度、住友ベークライト株式会社から技術導入し商品化しました。同社の神経細胞用培養液（品番：MB-X9501）の後継品となります。

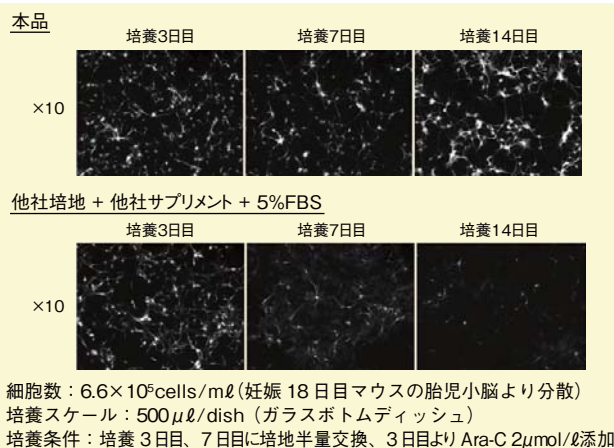
※本品は、ラットグリア細胞培養上清を含有しています。

特 長

- 神経突起伸張が非常に早い
- 低密度培養可能

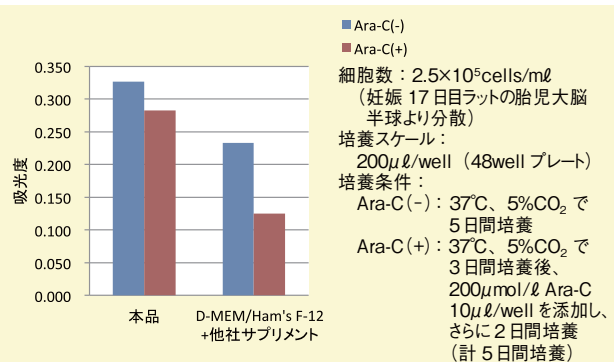
デ ータ

■ 生存維持活性評価：神経突起伸張確認 (MAP2免疫染色)



(データご提供：東京慈恵会医科大学再生医学研究部 岡野ジェイムス洋尚先生、小川優樹様)

■ 生存維持活性評価 (MTT アッセイ)



コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
148-09671	Neuron Culture Medium	細胞培養用	100ml	50,000

関連商品

凍結神経細胞

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
030-24881	Cerebral Cortex, from Mouse (embryonic day 15)	細胞培養用	1本 (2胎児)	43,800
033-24871	Cerebral Cortex, from Rat (embryonic day 17)	細胞培養用	1本 (2胎児)	50,000
036-24861	Cerebral Striatum, from Rat (embryonic day 17)	細胞培養用	1本 (2胎児)	50,000
082-10291	Hippocampus, from Mouse (embryonic day 16)	細胞培養用	1本 (2.5胎児)	56,300
085-10301	Hippocampus, from Rat (embryonic day 19)	細胞培養用	1本 (2.5胎児)	62,500

※E80... 150℃ 保存

神経細胞用分散液

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
291-78001	Neuron Dissociation Solutions	細胞培養用	4セット	照 会
297-78101	Neuron Dissociation Solutions S	細胞培養用	10セット	照 会

※酵素液、分散液、除去液のセットがそれぞれ 4 セット、10 セット入っています。

添加剤

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
030-11951	Cytosine-1-β-D (+)-arabinofuranoside [Ara-C] [Cytarabine]	生化学用	100mg	4,200
034-11954			500mg	9,000
036-11953			1g	13,800

アニマルフリートリプシン EDTA **Wako** トリプシン EDTA 溶液 (フェノールレッド不含), AF

本品は、マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験、無菌試験済みのトリプシン EDTA 溶液です。接着細胞の剥離、各種組織の細胞分散などにご使用いただけます。リコンビナントトリプシンを原料とした動物由来物不含製品です。ウイルス汚染の心配がなく、実験に安心してご使用いただけます。

特 長

- 動物由来物不含
- 細胞剥離能が高く、剥離後の生存率が良い

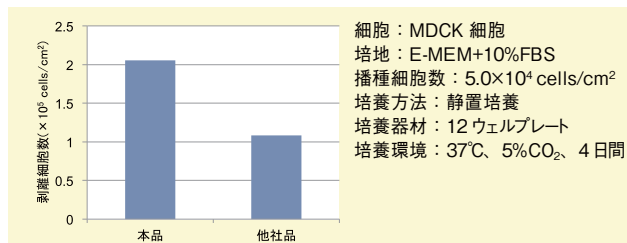
規格項目

外観、pH、浸透圧、無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験、実用試験 (Vero 細胞が 10 分後完全に剥離し、生細胞率が 90% 以上)

[次頁に続く]

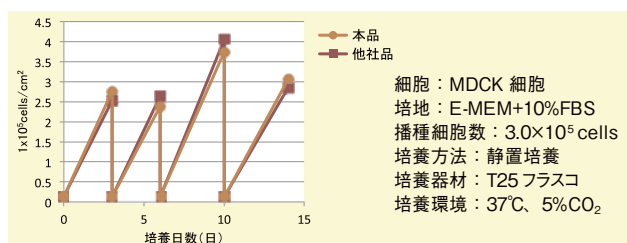
データ

細胞剥離能



培養後、37℃、5%CO₂で15分間処理し、剥離細胞数を測定した。他社品と比較し良好な細胞剥離能を示した。

継代培養時の影響



37℃、5%CO₂で15分間トリプシン処理後に継代培養を行った。細胞の増殖に本品の影響がないことを確認した。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
203-20251	Trypsin-EDTA Solution without Phenol Red, AF	細胞培養用	100ml	6,000
207-20271	Trypsin-EDTA Solution (High Trypsin) without Phenol Red, AF ^{※1}	細胞培養用	100ml	9,500

※1：トリプシンEDTA溶液（高トリプシン）（フェノールレッド 不含），AFは通常品〔コード No. 203- 20251〕の5倍量のトリプシンを含有しています。

関連商品

トリプシンEDTA(ブタパルボウイルス試験済み原料を使用)

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
202-16931	0.05w/v% Trypsin-0.53mmol/ℓ EDTA・4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800
204-16935			500ml	6,800
209-16941	0.25w/v% Trypsin-1mmol/ℓ EDTA・4Na Solution with Phenol Red	細胞培養用	100ml	1,800
201-16945			500ml	6,800
206-17291	0.5w/v% Trypsin-5.3mmol/ℓ EDTA・4Na Solution with Phenol Red (×10)	細胞培養用	100ml	4,200
208-17251	0.5w/v% Trypsin-5.3mmol/ℓ EDTA・4Na Solution without Phenol Red (×10)	細胞培養用	100ml	4,200

リコンビナントトリプシン

コード No.	メーカーコード	品 名	メーカー	容量 ^{※2}	希望納入価格 (円)
631-24973	06369880103	Trypsin, Porcine, recombinant (<i>Pichia pastoris</i>), GMP Grade	ロシュ・ダイアグノスティクス	1g	250,000
635-24971	03358658103			3.5MU	照 会

※2：容量は各包装に含まれるタンパク質量です。3.5MUは約15gのタンパク質量に相当します。溶液品で濃度は約70mg/mlです。

アニマルフリーコラゲナーゼ Wako

コラゲナーゼ タイプ A/B/C

本品は、*Clostridium histolyticum* 由来の動物由来物フリーのコラゲナーゼです。動物由来物を含まない培地で培養しています。そのため、動物原料に起因するBSEや病原菌混入の心配がありません。

活性の異なる3種類の製品を発売しました。

製品概要

- 外観：褐色、結晶～粉末又はフレーク
- 由来：Clostridium histolyticum

タイプ	コラゲナーゼ活性	カゼイナーゼ活性	クロストリパイン活性	トリプシン活性
A	150units/mg 以上	150units/mg 以上	8.0units/mg 以下	0.1units/mg 以下
B	300units/mg 以上	300units/mg 以上	5.0units/mg 以下	0.5units/mg 以下
C	200units/mg 以上	150units/mg 以上	3.0units/mg 以下	0.1units/mg 以下

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
038-24561	Collagenase Type A, Animal-derived-free	細胞分散用	100mg	10,000
034-24563			500mg	30,000
035-24571	Collagenase Type B, Animal-derived-free	細胞分散用	100mg	10,000
031-24573			500mg	30,000
032-24581	Collagenase Type C, Animal-derived-free	細胞分散用	100mg	10,000
038-24583			500mg	30,000

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
038-22361	Collagenase	細胞分散用	100mg	6,200
034-22363			1g	25,500
032-22364			5g	92,500
034-13291	Collagenase	コラーゲン分析用	25mg	19,900
035-24071	Collagenase, Purified	細胞分散用	5,000 units	16,000
031-24073			25,000 units	62,000
036-23141	Collagenase, recombinant, Animal-derived-free	細胞分散用	240,000 units	24,000
031-17601	Collagenase Type I	細胞分散用	100mg	5,700
037-17603	コラゲナーゼ/カゼイナーゼ/トリプシン 活性がバランスよく含まれているタイプ		500mg	16,500
035-17604			1g	30,500
031-22591	Collagenase Type I, Filtered	細胞分散用	50mg	8,000
038-17851	Collagenase Type V	細胞分散用	100mg	8,300
032-17854	トリプシン活性が低いタイプ		1g	38,000
035-17861	Collagenase Type X	細胞分散用	100mg	7,900
039-17864	トリプシン活性が高いタイプ		1g	33,000
038-23961	Collagenase Type X, Filtered	細胞分散用	50mg	8,500

IgG タイプ抗糖鎖抗体ラインアップ

抗糖鎖モノクローナル抗体シリーズ

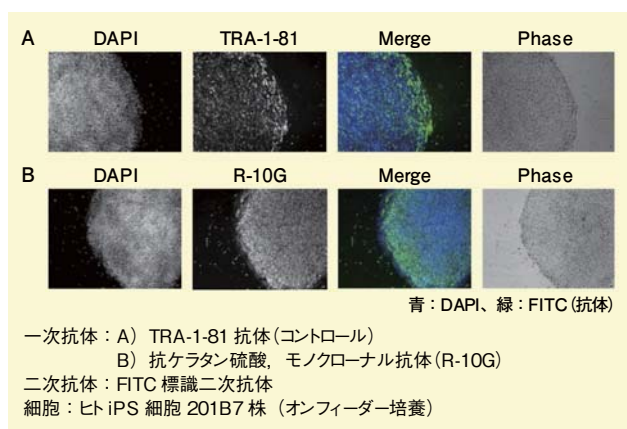
本シリーズは、糖鎖に対するIgGタイプの抗体です。糖鎖マーカーは細胞の状態や疾患、発生と深く関連するためさまざまな分野において注目されています。

■抗ケラタン硫酸, モノクローナル抗体(R-10G)

本品は、ヒトiPS細胞を抗原に樹立した抗体です。一般に広く使用されている多くの未分化マーカー用抗体と異なり、EC細胞（胎児性がん細胞）へはほとんど反応せず、ヒトiPS/ES細胞を認識します。

- クローン No. : R-10G
- 免疫動物 : マウス
- サブクラス : IgG1
- 実用濃度 : ウエスタンブロット 1 ~ 5 $\mu\text{g/ml}$
ELISA 1 ~ 5 $\mu\text{g/ml}$
免疫細胞染色 5 ~ 20 $\mu\text{g/ml}$

データ



【参考文献】

- 1) Kawabe, K. *et al.* : *Glycobiology*, **23** (3), 322 (2013).

■抗Sia α 2-3, モノクローナル抗体(HYB4)

本品は、Sia α 2-3Nc4Cerを抗原に樹立した抗体です。末端にSia α 2-3Gal構造を持つ糖鎖を認識します。

- クローン No. : HYB4
- 免疫動物 : マウス
- サブクラス : IgG3 $\cdot\kappa$
- 実用濃度 : ウエスタンブロット 10 ~ 50 $\mu\text{g/ml}$
ELISA 5 ~ 25 $\mu\text{g/ml}$
フローサイトメトリー 5 ~ 25 $\mu\text{g/ml}$
免疫細胞染色 10 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$

【参考文献】

- 1) Hidari, K. I. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **436**, 394 (2013).
- 2) Yoneyama, T. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **448**, 390 (2014).

■抗シアリルLe^a抗原, モノクローナル抗体(MSW113)

本品は、ヒト結腸がん由来SW116細胞を抗原に樹立した抗体です。シアリルLe^a抗原の非還元末端側Sia α 2-3Gal β 1-3GlcNAcを認識し、多くの消化器系のがん関連糖鎖抗原として古くから知られるCA19-9抗原に対する抗体NS19-9とは還元末端のFuc要求性が異なります。

- クローン No. : MSW113
- 免疫動物 : マウス
- サブクラス : IgG3
- 実用濃度 : ウエスタンブロット、イムノブロット 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~
イムノアフィニティクロマトグラフィー
固相免疫測定

【参考文献】

- 1) Kitagawa, H. *et al.* : *J. Biochem.*, **104**, 817 (1988).
- 2) Kitagawa, H. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **268**, 26541 (1993).
- 3) Akita, K. *et al.* : *Int. J. Gynecol. Cancer*, **22**, 531 (2012).

■抗シアリルTn抗原, モノクローナル抗体(MLS132)

■抗Tn抗原, モノクローナル抗体(MLS128)

本品は、ヒト結腸腺がん由来細胞LS180細胞を抗原に樹立した抗体です。

Tn抗原及びシアリルTn抗原はがん関連糖鎖抗原として知られるムチン型糖鎖であり、本品はそれぞれ、クラスター状のシアリルTn抗原及びTn抗原を認識します。

	抗シアリル Tn 抗原, モノクローナル抗体	抗 Tn 抗原, モノクローナル抗体
クローンNo.	MLS132	MLS128
免疫動物	マウス	
サブクラス	IgG3	
実用濃度	ELISA 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ イムノブロット 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ 免疫組織染色 1 $\mu\text{g/ml}$ ~	ウエスタンブロット 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ イムノブロット 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ FACS 1 $\mu\text{g/ml}$ ~ 免疫組織染色 1 $\mu\text{g/ml}$ ~ がん細胞増殖阻害

【参考文献】

- 1) Fukui, S. *et al.* : *Jpn. J. Cancer Res.*, **79**, 1119 (1988).
- 2) Numata, Y. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **170**, 981 (1990).
- 3) Nakada, H. *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **187**, 217 (1992).
- 4) Nakada, H. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 2495 (1993).
- 5) Tanaka, N. *et al.* : *Eur. J. Biochem.*, **263**, 27 (1999).
- 6) Akita, K. *et al.* : *Int. J. Gynecol. Cancer*, **22**, 531 (2012).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
011-25811	Anti Keratan Sulfate, Monoclonal Antibody (R-10G) 	糖鎖研究用	200 μl	25,000
017-25813			1ml	98,000
011-25171	Anti Sia α 2-3, Monoclonal Antibody (HYB4) 	免疫化学用	200 μl	35,000
010-25901	Anti Sialyl-Le ^a Antigen, Monoclonal Antibody (MSW113) 	糖鎖研究用	100 μl	30,000
016-25903			500 μl	120,000
010-25881	Anti Sialyl-Tn Antigen, Monoclonal Antibody (MLS132) 	糖鎖研究用	100 μl	30,000
016-25883			500 μl	120,000
017-25891	Anti Tn Antigen, Monoclonal Antibody (MLS128) 	糖鎖研究用	100 μl	30,000
013-25893			500 μl	120,000

レビー小体マーカー



抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体(pSyn#64), ビオチン結合

抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体(pSyn#64), FITC 結合

パーキンソン病、レビー小体型認知症 (DLB) などの神経変性疾患において神経細胞に特異的に出現するレビー小体は、セリン129残基が特異的にリン酸化された α -シヌクレインを含んでいます。抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体(pSyn#64) (コード No. : 015-25191) は、正常な α -シヌクレインとは反応せず、蓄積したリン酸化 α -シヌクレインのみを認識します。本品は、同抗体にビオチンやFITCを標識した抗体です。

特 長

- 標識済みで二次抗体不要
- 免疫染色での実用評価済み
- 低バックグラウンド

製品概要

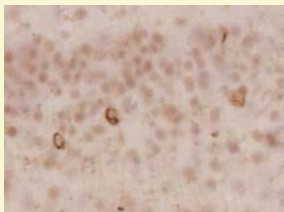
	抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体 (pSyn#64), ビオチン結合	抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体 (pSyn#64), FITC 結合
標識体	ビオチン	FITC
サブクラス	マウスIgG2b	
種交差性	ヒト、マウス、ラット	
緩衝液	PBS, 0.05% アジ化ナトリウム	
実用希釈倍率	免疫細胞染色 1 : 200-5,000 免疫組織染色 1 : 200-5,000	

使用例 (免疫染色)

抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体 (pSyn# 64), ビオチン結合

抗リン酸化 α -シヌクレイン,
モノクローナル抗体
(pSyn#64), ビオチン結合

抗リン酸化 α -シヌクレイン,
モノクローナル抗体 (pSyn#64)
[コード No. 015-25191] +
ビオチン標識二次抗体



サンプル：凝集 α -シヌクレインを脳内に注入した6ヶ月齢野生型マウス線状体切片：50 μ m厚ビブラトム切片
染色法：ABC法 + DAB染色
抗体濃度：1/200

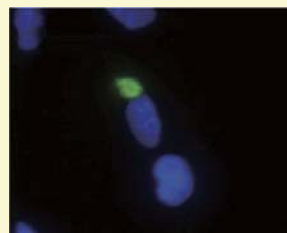
二次抗体を用いた場合よりもバックグラウンドが抑えられ、明瞭な染色が見られた。

(データご提供：東京大学大学院医学系研究科神経病理学教室 桑原知樹先生、岩坪威先生)

抗リン酸化 α -シヌクレイン, モノクローナル抗体 (pSyn# 64), FITC 結合

抗リン酸化 α -シヌクレイン,
モノクローナル抗体 (pSyn#64),
FITC 結合

抗リン酸化 α -シヌクレイン
モノクローナル抗体
[コード No. 015-25191] +
Alexa Fluor® 488 標識二次抗体



サンプル：凝集 α -シヌクレイン(C末端欠損体; 1-122aa)をLipofectionにより添加した α -シヌクレインを恒常発現するヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞

青：DAPI (核)、緑：リン酸化 α -シヌクレイン
抗体濃度：1/1,000

二次抗体を用いた場合と同様に凝集 α -シヌクレインの明瞭な染色が見られた。

(データご提供：東京大学大学院医学系研究科神経病理学教室 桑原知樹先生、岩坪威先生)

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
010-26481	Anti Phosphorylated α -Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64), Biotin-conjugated	免疫化学用	100 μ l	45,000
017-26491	Anti Phosphorylated α -Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64), FITC-conjugated	免疫化学用	100 μ l	45,000

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
015-25191	Anti Phosphorylated α -Synuclein, Monoclonal Antibody (pSyn#64)	免疫化学用	50 μ l	30,000
190-17941	α -Synuclein, Human, recombinant	細胞生物学用	0.5mg	30,000
197-17951	β -Synuclein, Human, recombinant	細胞生物学用	0.5mg	30,000
194-17961	γ -Synuclein, Human, recombinant	細胞生物学用	0.5mg	30,000
019-19741	Anti Iba1, Rabbit (for Immunocytochemistry)	免疫化学用	50 μ g	30,000
016-20001	Anti Iba1, Rabbit (for Western Blotting)	免疫化学用	50 μ g	30,000
016-26461	Anti Iba1, Rabbit, Biotin-conjugated	免疫化学用	100 μ l	45,000
013-26471	Anti Iba1, Rabbit, Red Fluorochrome-conjugated	免疫化学用	100 μ l	45,000

眼の研究に



視神経研究用ポリクローナル抗体

当社では、視神経の発生、機能に関与する因子に対する抗体を各種取扱っています。視神経の研究にご活用下さい。

[次頁に続く]

特 長

- KOマウスでの性能チェック済み
- 文献での使用報告あり

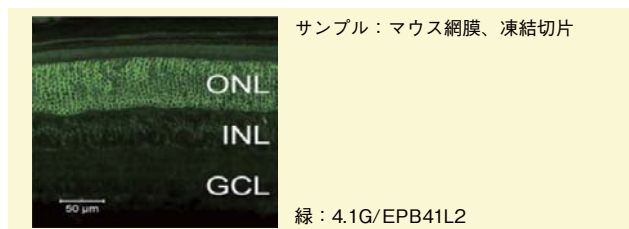
■ 抗マウス 4.1G/EPB41L2, ウサギ

4.1G (別名: EPB41L2) は、ERM ファミリーに属する約 113kDa のタンパク質で、細胞膜の形態を保持する機能が知られています。近年、KO マウスを用いた解析により桿体視細胞のシナプス位置を決定する機能を果たすと報告されています。本品は、桿体視細胞マーカーとして使用可能です。

- クラス: ウサギ IgG
- 種交差性: マウス (他の動物種は未検証)
- 実用希釈倍率: 免疫細胞染色 1 : 5,000-10,000
ウエスタンブロット 1 : 10,000-100,000

使用例

■ 免疫染色



(データご提供: 大阪大学蛋白質研究所 古川貴久先生)

【参考文献】

- 1) Sanuki, R. et al.: *Cell Rep.*, **10**, 796 (2015).

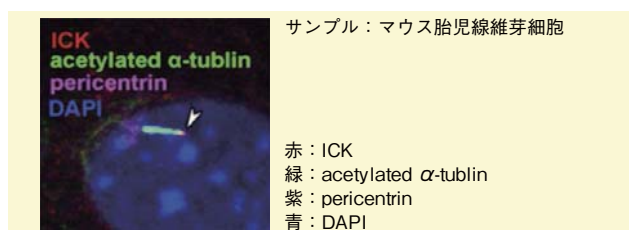
■ 抗マウス ICK, モルモット

ICK (別名: MRK, LCK2) は、約 71kDa のキナーゼで、繊毛の先端に局在して繊毛内におけるタンパク質輸送の方向転換を制御し、繊毛形成に関与すると報告されています。

- クラス: モルモット IgG
- 種交差性: マウス (他の動物種は未検証)
- 実用希釈倍率: 免疫細胞染色 1 : 100
ウエスタンブロット 1 : 250

使用例

■ 免疫染色



(データご提供: 大阪大学蛋白質研究所 古川貴久先生)

【参考文献】

- 1) Chaya, T. et al.: *EMBO J.*, **33**, 1227 (2014).

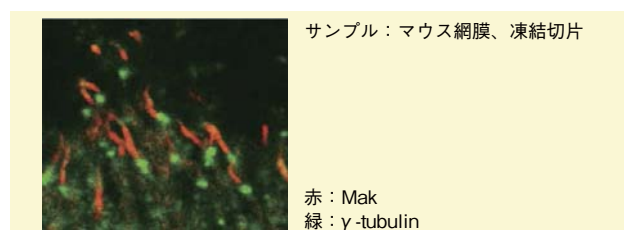
■ 抗マウス Mak, モルモット

Mak (別名: DJ417M14.2) は、約 71kDa のキナーゼで RP1 という因子のりん酸化を制御して繊毛の長さを調節することで、視細胞の生存に関与する機能が報告されています。

- クラス: モルモット IgG
- 種交差性: マウス (他の動物種は未検証)
- 実用希釈倍率: 免疫細胞染色 1 : 1,000
ウエスタンブロット 1 : 3,000

使用例

■ 免疫染色



(データご提供: 大阪大学蛋白質研究所 古川貴久先生)

【参考文献】

- 1) Omori, Y. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **107**, 22671 (2010).

■ 抗マウスピカチュリン, ウサギ

ピカチュリンは、視覚の神経伝達に関わる細胞外マトリックスタンパク質で、リボンシナプス間隙に存在します。網膜視細胞と双極細胞の樹状突起との相互作用において不可欠な役割を担っていると考えられています。

- クラス: ウサギ IgG
- 種交差性: マウス/ラット (他の動物種は未検証)
- 実用希釈倍率: 免疫細胞染色 1 : 1,000-2,000
ウエスタンブロット 1 : 10,000

使用例

■ 免疫染色



(データご提供: 大阪大学蛋白質研究所 古川貴久先生)

【参考文献】

- 1) Sato, S. et al.: *Nat. Neurosci.*, **11**, 923 (2008).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
018-26421	Anti Mouse 4.1G/EPB41L2, Rabbit	免疫化学用	50μl	40,000
015-26431	Anti Mouse ICK, Guinea Pig	免疫化学用	50μl	40,000
012-26441	Anti Mouse Mak, Guinea Pig	免疫化学用	50μl	40,000
011-22631	Anti Mouse Pikachurin, Rabbit	免疫化学用	50μl	35,000

低コストでのタンパク質精製に Wako

Ni-NTA アガロース HP(High Performance)

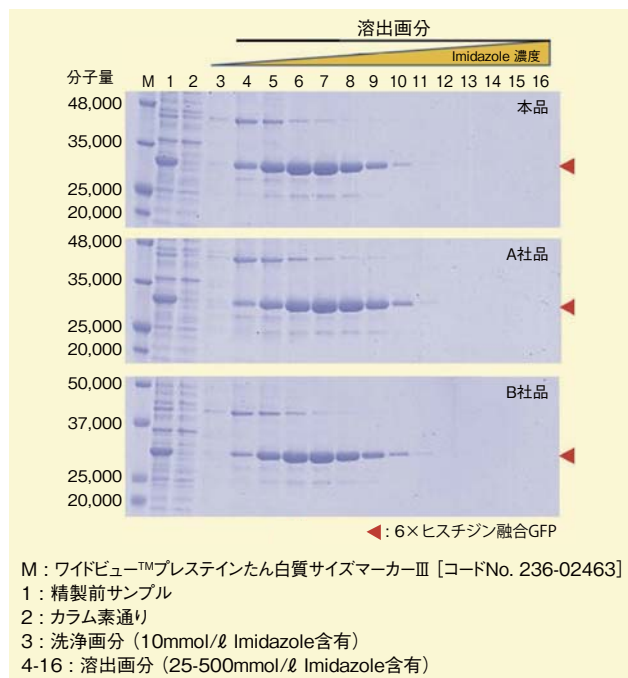
Ni-アガロースは、6×ヒスチジン融合タンパク質をアフィニティー精製するために使用されます。本品は、リガンドにニトリロ三酢酸 (NTA) を用いており、金属イオンの脱落によるタンパク質純度の低下を抑えます。また、変性剤耐性を有し、中高圧液体クロマトグラフィーにも対応しています。

特 長

- 低コスト
- 高圧力対応
- 高い変性剤耐性

デ ー タ

■ 他社製品との比較



他社製品と同等の性能です。

〈プロトコール〉

- ① 6×ヒスチジン融合GFPを発現する大腸菌の溶解液 (1×PBS) を超音波破碎法に供し、菌体を破碎する。
- ② 前処理を行い精製前サンプルを調製する。
- ③ PBSで平衡化したレジン1mLを精製前サンプルに添加し、バッチ法にて反応 (4℃、1時間) させる。
- ④ オープンカラムにレジンを回収し、洗浄バッファー (20mmol/L Sodium Dihydrogenphosphate (pH 7.4), 50mmol/L Sodium Chloride, 10mmol/L Imidazole) 25mLでカラムを洗浄する。
- ⑤ 溶出バッファー (20mmol/L Sodium Dihydrogenphosphate (pH 7.4), 50mmol/L Sodium Chloride, 25-500mmol/L Imidazole) 3mLで6×ヒスチジン融合GFPを溶出させる。
- ⑥ 各溶出サンプルをスーパーセッブ™エース, 10-20%, 17well [コードNo. 198-15041] にてSDS-PAGE、CBB染色を行う。

製品仕様 既存製品との比較

製品名	Ni-NTA アガロース HP	Ni-アガロース [145-07981]
ゲルマトリックス	6%高度架橋アガロース	6%架橋アガロース
リガンド	ニトリロ三酢酸 (NTA)	イミノ二酢酸 (IDA)
ニッケル結合容量	≥15μmol Ni ²⁺ /mL gel	20-40μmol Ni ²⁺ /mL gel
ビーズサイズ	50-150μm	40-180μm
保存液	20%エタノールの50%懸濁液	20%エタノールの50%懸濁液
最大圧力	0.6MPa	—
最大流速	1,800cm/h	—

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
145-09681	Ni-NTA Agarose HP	遺伝子研究用	10mL (NET 5mL)	13,000
141-09683	Ref	Ref	100mL (NET 50mL)	100,000

関連商品

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格 (円)
145-07981			5mL	19,000
141-07983	Ni-Agarose	Ref	10mL	27,000
149-07984			100mL	120,000
031-19781	Co-Agarose	Ref	5mL	29,500
038-19791	Cu-Agarose	Ref	5mL	25,000
263-01871	Zn-Agarose	Ref	5mL	26,000
298-67401	Metal Chelate Agarose Set (Ni, Co, Cu, Zn)	Ref	1mL×4	15,000

新機構による遺伝子発現制御研究用試薬

HiPep Laboratories

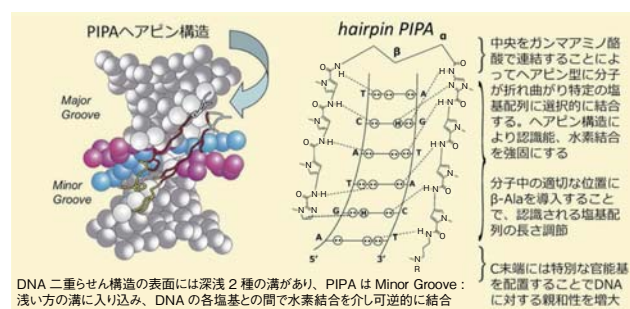
PIPA (ピロール・イミダゾール) からなるポリアミド

PIPA は、抗生物質より見いだされた低分子有機化合物で、転写因子より強く配列特異的に2本鎖DNAに結合し、標的遺伝子の転写活性を抑制する新しい阻害機構による新薬候補として研究されています。過去の製造法の欠点を解決、産業的に展開できるようになりました。未だ有効な治療薬のない難治性疾患などに対し、新規な遺伝子転写制御薬研究のための化合物として期待できます。

特 長

- 分解酵素によって分解されることなく、生体内で安定
- 標的遺伝子転写活性を抑制するため、副次的な作用の観点で有利
- 自由に分子設計・化学合成ができる

PIPA による double strand DNA の認識原理



(ハイペップ研究所提供)

[次頁に続く]

ラインアップ

メーカーコード	品名	構造	標的遺伝子	出典
PIPA-01	PIPA-01	Ac-Im-Py-Py-βAla-Im-Py-Py-γAbu-Py-Py-βAla-Py-Py-βAla-Dp	ヒト TGF-β1	1
PIPA-02	PIPA-02	Ac-Im-Im-βAla-Im-Py-Im-γAbu-Py-Py-βAla-Py-Py-βAla-Dp	ヒト TGF-β1	1
PIPA-03	PIPA-03	Ac-Im-Py-Im-βAla-Py-Py-Py-γAbu-Im-Py-Im-βAla-Py-Py-βAla-Dp	ヒト TGF-β1	1
PIPA-04	PIPA-04	Ac-Py-Py-βAla-Py-Im-Py-γAbu-Py-Py-βAla-Im-Py-βAla-Dp	ラット TGF-β1	2
PIPA-05	PIPA-05	Ac-Im-Py-Im-βAla-Py-Py-Im-γAbu-Py-Py-βAla-Py-Py-βAla-Dp	ヒト LOX-1	3
PIPA-06	PIPA-06	Ac-Py-Py-βAla-Py-Py-Im-γAbu-Py-Im-βAla-Py-Im-βAla-Dp	ラット LOX-1	4
PIPA-07	PIPA-07	Ac-Im-Py-Py-βAla-Py-Py-Py-γAbu-Im-Py-Im-βAla-Im-Py-Py-βAla-Dp	ヒト CTGF	5
PIPA-08	PIPA-08	Ac-Py-Im-βAla-Im-Im-Im-γAbu-Im-Py-Py-βAla-Py-Py-βAla-Dp	TMRSS2-ERG	6
PIPA-09	PIPA-09	Ac-Py-Im-βAla-Im-Im-Im-γAbu-Py-Py-βAla-Py-Py-βAla-Dp	TMRSS2-ERG	6

TGF-β1：進行性腎障害、肝硬変、肺線維症、血管狭窄、皮膚癬瘡、角膜炎、がん転移などに関与するタンパク質

Lox-1：動脈硬化症に関与するタンパク質

CTGF：血管形成、細胞の遊走や骨形成に関与するタンパク質

TMRSS2-ERG：前立腺がんに関与するタンパク質、細胞のがん化やがんの悪性度の進行などに影響

Ac：アセチル、Dp：ジメチルアミノプロピル

梱包形態：凍結乾燥品、添加物無、100 mg/vial ~ 1 mg (別途グラムスケールでの製造も行います)

応用例

PIPA は特異的に TGF-β1 発現を抑制し、ラットの腎障害モデルへの長期投与でも副次的な作用は無く、腎障害を改善しました。またバルーン傷害血管に一回の投与で血管狭窄を有意に抑制します。さらに局所投与でも皮膚肥厚性癬瘡、角膜炎などを抑制します。1 回の全身投与で 1 週間以上、細胞内の核に結合し、ターゲット遺伝子の転写活性を特異的に抑制する極めてユニークな化合物です。マウスでの毒性試験では致死量は 40 mg/kg 以上であり、20 mg/kg では副次的な作用はありません。

【参考文献】

- 1) Igarashi, J. *et al.* : *PLOS One*, **10**, e0125295 (2015).
- 2) Matsuda, H. *et al.* : *Kidney Int.*, **79**, 46 (2011).
- 3) Kamei, T. *et al.* : *J. Biomed. Biotechnol.*, **2102**, 715928 (2012).
- 4) Yao, E. H. *et al.* : *Hypertension*, **52**, 86 (2008).
- 5) Wan, J. X. *et al.* : *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 1572 (2011).
- 6) Obinata, D. *et al.* : *Cancer Sci.*, **105**, 1272 (2014).

容量・価格はお問合せ下さい。また、標識化・誘導体化・類縁配列のデザインなども対応可能です。資料のご要望がございましたらお問合せ下さい。

お問合せ先：labchem-tec@wako-chem.co.jp

高効率 TA クローニングキット ニッポン・ジーン

TA-エンハンサークローニングキット

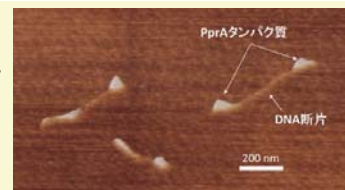
本品は、T ベクターとライゲーション用試薬を組合せた TA クローニング用キットです。ライゲーション用試薬は、ニッポンジーン独自のバッファー組成と 10 × Enhancer Solution に含まれる「PprA タンパク質」によって、これまで効率が低いとされてきた TA クローニングを高効率に行うことができます。

特 長

- PprA タンパク質で高効率なライゲーションが可能
- 30 分間でライゲーション反応が完了
- ECOS™ Competent *E. coli* と組合せることでより迅速に
- ライゲーション反応終了液をそのまま形質転換に使用可能

PprA タンパク質とは？

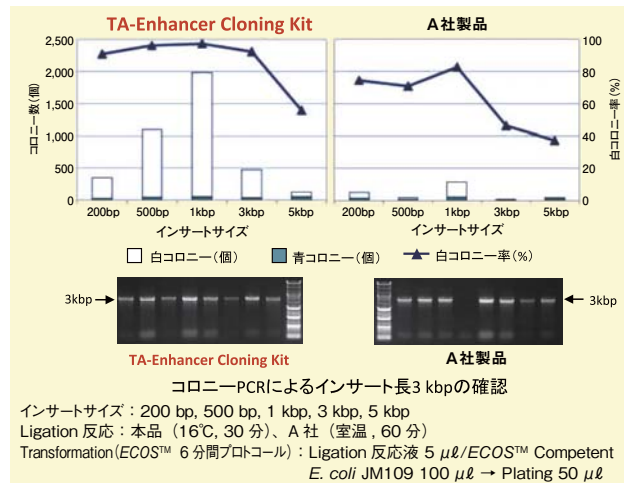
PprA タンパク質は、放射線抵抗性細菌由来の DNA 修復促進活性を有する DNA 結合タンパク質です。DNA ライゲーション反応において、PprA を添加することにより、ライゲーション反応を促進します。



PprA は直鎖状二本鎖 DNA の末端に結合
(資料ご提供：東洋大学 放射線微生物学研究室 嶋海先生)

デ ータ

各鎖長のライゲーション効率



各社製品のプロトコルに従ってクローニングを行った。Taq DNA Polymerase で増幅した各インサートサイズの PCR 産物を用いて、上記条件でライゲーション反応を行い、本品と A 社製品のライゲーション効率を比較した。さらに、インサート長 3 kbp のプラスミドを保有する大腸菌コロニーからランダムに選択し、コロニー PCR でインサートの確認を行った。

本品は A 社製品と比較して、コロニー数及び白コロニー率において優位性が認められた。また、コロニー PCR による結果から、本品は選択したすべてのコロニーにおいて増幅が認められた。

コード No.	品 名	メーカー	容量	希望納入価格 (円)
316-08271	TA-Enhancer Cloning Kit [E]	ニッポン・ジーン	25 回分	23,000

未分化維持培養や分化誘導時の品質管理に



ヒトES/iPS 細胞モニタリングキット

本キットは、rBC2LCNを用いて、ヒトES/iPS細胞数を推測するキットです。

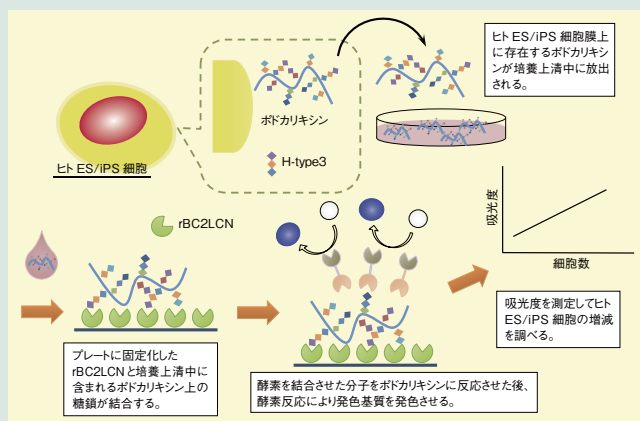
rBC2LCNは、*Burkholderia cenocepacia*由来のBC2L-CレクチンのN末端ドメインの組換えタンパク質です。rBC2LCNはヒトES/iPS細胞表面に存在するボドカリキシン上のムチン様O型糖鎖であるH-type3 (Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc)に高い親和性を持つため、ヒトES/iPS細胞の未分化マーカーとして報告されています。

rBC2LCNにより認識される糖タンパク質(H-type3結合ボドカリキシン)はヒトES/iPS細胞から培養上清に放出されます。本キットは、培養上清に放出される糖タンパク質をrBC2LCN-抗体サンドイッチアッセイで定量的に測定することで、ヒトES/iPS細胞数を推測できます。また、培養上清を測定試料とするため、培養を継続しながらヒトES/iPS細胞の増減を簡便にモニタリングできます。

特 長

- ヒトES/iPS細胞から分化過程にある細胞の培養上清を分析することで、ヒトES/iPS細胞の増減をモニタリング可能
- 培養上清(50 μ l)を測定対象とするため、細胞を検査に消費することなく分析でき、細胞はそのまま培養を継続可能
- ELISA法を用いるため、簡便に多検体を処理可能

原 理



【使用上の注意】

- ・細胞株、あるいは培地の種類などの培養条件により、シグナル強度と細胞数(cells/ml)の関係が異なるため、標準曲線は細胞株ごと及び未分化維持培養条件ごと、分化誘導培地ごとに作成する必要があります。
- ・異なる培養条件ではシグナル強度の高低で未分化性を評価することはできません。同じ培養条件で評価して下さい。
- ・このキットを用いて算出される未分化細胞数と実際の細胞数とは必ずしも一致しません。未分化維持状態及び細胞分化の進行をモニタリングする一つの指標とお考え下さい。

【参考文献】

- 1) Tateno, H., Onuma, Y., Ito, Y., Hiemori, K., Aiki, Y., Shimizu, M., Higuchi, K., Fukuda, M., Warashina, M., Honda, S., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Sci. Rep.*, 4, 4069 (2014).

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
299-78301	Human ES/iPS Cell Monitoring Kit	再生医療研究用	96回用	96,000

Refr...2~10℃保存 F...-20℃保存 -80...-80℃保存 表示がない場合は室温保存です。

特定...I...特定毒物...II...毒物...III...劇物...IV...毒薬...V...劇薬...VI...危険物...VII...向精神薬...VIII...特定麻薬向精神薬原料...IX...化審法第一種特定化学物質...X...化審法第二種特定化学物質...XI...化学兵器禁止法第一種指定物質...XII...化学兵器禁止法第二種指定物質...XIII...カルタヘナ法...XIV...覚せい剤取締法...XV...国民保護法

掲載内容は、2016年4月時点での情報です。上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (<http://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

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

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol. 84 No. 2

2016年4月15日発行

発行責任者 上田 衡

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>

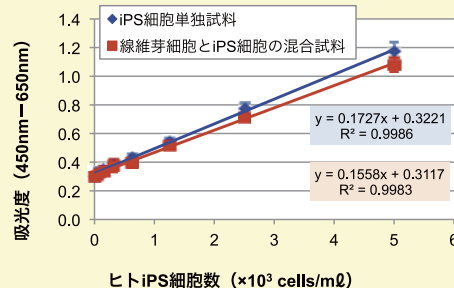
印刷所 共進社印刷株式会社

●和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。

E-mail jiho@wako-chem.co.jp

参考データ

■ 分化細胞培養上清へのヒトiPS細胞培養上清のスパイク実験



線維芽細胞の培養上清(血清含有)に添加したヒトiPS細胞の培養上清が測定可能が確認した。ヒトiPS細胞の混合割合を0~20% (0~ 2×10^4 cells/ml : 総細胞数 1×10^5 cells/ml) となるように、線維芽細胞の培養上清へヒトiPS細胞の培養上清を混合し、本キットに供した結果、高い相関が得られ、血清及び線維芽細胞存在条件下で作製した培養上清中においてもヒトiPS細胞の培養上清を測定可能であった。また、線維芽細胞とiPS細胞の混合試料から得られた近似式よりこの条件下でのヒトiPS細胞の検出下限値*を求めると、170 cells/mlであった。

同様にヒトiPS細胞の培養上清のみを段階的に希釈し、本キットに供し、検出下限値を求めると、23 cells/mlであった。

その他の分化細胞では、ヒト膝軟骨細胞やHeLa細胞の培養上清を使用しても同様に測定可能であった。

※検出下限値: バックグラウンドの吸光度平均 + 3.3SDと近似式から算出した細胞数。

●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.

■和光純薬工業株式会社 (Japan) <http://www.wako-chem.co.jp>

フリーダイヤル (日本のみ) 0120-052-099 / Tel 81-6-6203-3741

フリーファックス (日本のみ) 0120-052-806 / Fax 81-6-6201-5964

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

■Wako Overseas Offices:

・Wako Chemicals USA, Inc. <http://www.wakousa.com>

Toll-Free (U.S. only) 1-877-714-1920

Head Office (Richmond, VA): Tel 1-804-714-1920 / Fax 1-804-271-7791

Boston Sales Office (Cambridge, MA): Tel 1-617-354-6772 / Fax 1-617-354-6774

・Wako Chemicals GmbH <http://www.wako-chemicals.de>

European Office (Neuss, Germany): Tel 49-2131-311-0 / Fax 49-2131-311100