

2007 No.  
**122**

ISSN 0385-1516

## CONTENTS

### Review

テトラゾリウム塩を利用した  
メイラード反応生成物の検出

高知大学農学部 島村 智子

### 連載

エイズから見た感染症研究の最前線

その2 HIVとレセプター

熊本大学大学院医学薬学研究部 前田 洋助

### Topics on Chemistry

亜鉛二核錯体複合体を用いた  
細菌のイメージング

同仁化学研究所 江副 公俊

ドージンニュース

**DOJIN NEWS**

## 目次

## Review

- テトラゾリウム塩を利用したメイラード反応生成物の検出  
高知大学農学部 島村 智子 ..... 1
- エイズから見た感染症研究の最前線 その2 HIVとレセプター  
熊本大学大学院医学薬学研究部 前田 洋助 ..... 8

## Topics on Chemistry

- 亜鉛二核錯体複合体を用いた細菌のイメージング  
同仁化学研究所 江副 公俊 ..... 10

## Commercial

## 新製品

- ペルオキシダーゼ標識用キット (for 1 mg) ..... 7
- Self Assembled Monolayers 研究用試薬 ..... 12
- 分子生物学用 Good's buffer ..... 14

## 関連商品

- 還元系発色試薬 ..... 6
- 3-Deoxyglucosone 検出キット ..... 6

## 試作品

- ビオチン標識用キット(for 1 mg) ..... 14

## お知らせ

- 学会展示のお知らせ ..... 9
- 容器変更のお知らせ ..... 11
- 九州大学 同仁化学組織対応型連携 ..... 13

## 新製品案内

製品価格詳細は掲載ページをご覧ください

- ペルオキシダーゼ標識用キット (for 1 mg)  
Peroxidase Labeling Kit-NH<sub>2</sub> (for 1 mg)

## Self Assembled Monolayers 研究用試薬

- Hydroxy-EG3-undecanethiol  
Hydroxy-EG6-undecanethiol  
Carboxy-EG6-undecanethiol

## 分子生物学用 Good's buffer

- HEPES 分子生物学用  
MOPS 分子生物学用  
PIPES 分子生物学用



一心行の大桜

一心行の大桜は南阿蘇側のすそ野にある推定樹齢400年の山桜です。  
平成16年の台風の被害で形は変わりましたが、大きな枝振りは健在で  
花見の季節には多くの人で賑わいます。

## テトラゾリウム塩を利用したメイラード反応生成物の検出 Detection of Maillard Reaction Products with Tetrazolium Salt



島村智子  
(tomoko shimamura)  
高知大学農学部

### [ Summary ]

It is well-known that the Maillard reaction, also called non-enzymatic browning or glycation, is important for the formation of color, aroma, and flavor in food. However, it can cause deterioration of food quality, including generation of mutagenic compounds and loss of nutritional value. Thus, detection of Maillard reaction products is of paramount importance for the quality evaluation of food. This article reviews some of the studies designed to detect the Maillard reaction products such as aminoreductone generated in milk, dihydrofructosazine formed by the self-condensation reaction of glucosamine, and superoxide anion ( $O_2^-$ ) produced during the Maillard reaction. All the analyses described here are based on the reduction of tetrazolium salt, especially XTT and WST-1. Rapid and convenient methods for detecting Maillard reaction products with high specificity were made possible using these tetrazolium salts.

キーワード：メイラード反応、テトラゾリウム塩、牛乳、アミノ糖、スーパーオキシドアニオン

## 1. はじめに

### 1.1 メイラード反応とは

メイラード反応 (Maillard reaction) はアミノ酸やタンパク質と還元糖をはじめ不飽和脂肪酸など、食品や生体中に普遍的に存在する基本構成成分の間で起こる反応であり、その影響は多岐にわたっている。例えば、メイラード反応に伴う変異原の生成は食品の0次機能とも呼ばれる安全性に影響を及ぼす。また、糖によるリジン残基の修飾は栄養価の低下を引き起こす。すなわち、食品の1次機能 (栄養機能) に影響を与える。同様に、メイラード反応に伴うフレーバーの生成や褐変物質の生成は食品の2次機能 (感覚機能) へ、また、抗酸化物質等の生成は3次機能 (生体調節機能) へ影響を及ぼすことが知られている。さらに、生体内で糖化を受けたタンパク質の機能低下は疾病の発症要因の1つであると考えられている。従って、メイラード反応は食品系はもとより、生体系も含め最も重要な成分間反応としてみなされ、これまでに非常に多くの研究が行われてきた。

### 1.2 反応機構

メイラード反応の機構としてはアマドリ転移を経由するHodge経路と、糖の開裂を伴いフリーラジカルを生成するNamiki経路が知られている<sup>1)</sup>。Hodge経路は初期、中期、終期の3段階に分けられ、初期段階はアミノ化合物のアミノ基と還元糖のカルボニル基が反応してシッフ塩基を形成し、アマドリ転移物へと変化する反応で、この段階の生成物は無色である。中期段階ではアマドリ転移物が2,3-エノール化した後に1-デオキシグルコソンを形成する経路、あるいは1,2-エノール化した後に3-デオキシグルコソンを形成する経路へと進む。どちらの反応に進むかはpHに依存する。また、二糖類が関与するメイラード反応では、上記の2経路の他に4-デオキシグルコソンへと変化する経路が存在するとの報告がなされている<sup>2)</sup>。4-デオキシグルコソン経路は単糖類が関与

するメイラード反応では確認されておらず、二糖類に特徴的な反応経路である。終期段階になると、それまでの反応で生じたジカルボニル化合物、不飽和カルボニル化合物、フルフラール類などがさらにアミノ化合物と反応したり、中間生成物間の重合が生じたりして、褐変物質 (メラノイジン) が形成される。メラノイジンの構造については、近年でも、数多くの研究が行われているが、その全貌はいまだ明らかでない。Hodge経路と並ぶもう1つの反応経路であるNamiki経路ではシッフ塩基の形成後、逆アルドール縮合で生じる炭素数2または3のジカルボニル化合物がメラノイジンの形成に関与する。メイラード反応はあらゆる食品中で起こり得るものであるが、全ての食品でメラノイジンの形成までメイラード反応が進行しているわけではない。従って、加熱食品中に存在する物質、およびその濃度は大きく異なっている。それゆえ、分析法も生成物に応じて使い分けなければならず、実に様々な分析法が開発され、報告されている<sup>1)</sup>。

## 2. メイラード反応生成物検出に対するテトラゾリウム塩の利用

### 2.1 牛乳の品質評価に対するテトラゾリウム塩XTTの利用背景

牛乳は均質化後に、衛生学的品質を確保するため、また保存性を向上させるために加熱殺菌される。現在は62～65℃で30分以上の低温長時間 (LTLT) 殺菌、72～75℃で15秒間の高温短時間 (HTST) 殺菌、あるいは120℃以上で数秒間の超高温加熱処理 (UHT) を施された牛乳が市販されている。生乳の加熱殺菌はオフフレーバーなどの生成をもたらす、風味に影響を及ぼすことが知られている。実際に流通している牛乳の風味の差異は原料である生乳の差異にも一部起因しているが、加熱条件の違いが大きな要因であると考えられており、加熱強度と官能特性および香気特性との関連を論じた研究も数多く見られる。このオフフレーバーの生成にはメイラード反応が深く関わっている。もちろん、メイラー

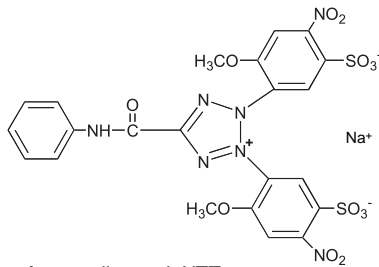


Fig. 1 Structure of tetrazolium salt XTT

ド反応が加熱乳に及ぼす影響はオフフレーバーの生成だけではなく、ラクトースによるリジン残基の修飾に伴う栄養価の低下、抗酸化物質の生成、褐色物質の形成、タンパク質の重合など広範囲にわたっており、その影響はプラスとマイナスの二面性を持ち合わせている<sup>3)</sup>。メイラード反応は加熱時間と加熱温度に依存して進行するので、加熱乳に施された熱処理のマーカとしての利用も品質評価上、重要である。このような観点から、牛乳中のメイラード反応生成物を検出する方法がこれまでに数多く開発されてきた。その中でも、フロシンとヒドロキシメチルフルフルールは加熱処理の程度に応じて増加することが明らかとなっており、信頼性の高い方法として知られている<sup>1)</sup>。しかしながら、その測定には長時間を要したり、複雑な前処理が必要であったりするため、実際の製造工程の管理を目的とした加熱マーカとして利用することは困難である。

### XTT法の確立

上記のような背景から、著者らは水溶性テトラゾリウム塩XTT (Fig. 1) を用いた牛乳のメイラード反応生成物の簡易・迅速検出法の開発を行い、XTT法が牛乳の加熱処理の識別に利用できること、また貯蔵条件の推定に実用的に利用できることを報告してきた<sup>4-8)</sup>。その内容を以下に紹介したい。

XTT法の測定手順は、マイクロプレート上において、試料40  $\mu$ Lとメナジオンを飽和させた0.2 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) で調製した0.5 mM XTT溶液 60  $\mu$ Lを混合直後に波長492 nm (リファレンス波長 600 nm) の吸光度を測定し、20分間反応後に再度吸光度測定を行うというものである。この20分の吸光度変化を各試料のXTT還元性とする。この手法を用いてLTLT乳 (65 で30分間の加熱殺菌)、UHT乳 (130 で2秒間)、ならびにLL (ロングライフ) 牛乳 (140 で3秒間) のXTT還元性を評価した結果をFig. 2に示した。また、LL牛乳を4 と37 で貯蔵し、経時的にXTT還元性を測定した結果をFig. 3に示した。図を見て明らかのように、XTT還元性は牛乳の加熱殺菌温度に依存して増加しており、XTT法を用いることで牛乳の熱履歴評価が可能であることが明らかとなった。また、牛乳の示すXTT還元性は貯蔵日数の経過に伴い低下した。その低下速度は貯蔵温度が高いほど速くなった。このことから、XTT法により牛乳の貯蔵条件を推定することも可能であることが示された。牛乳の熱履歴評価法には、同じく牛乳の還元性を利用したフェリシアナイド還元法で求められるタンパク還元価も知られているが、タンパク還元価は加熱殺菌温度を反映する一方で、貯蔵期間中には変化が認められず、

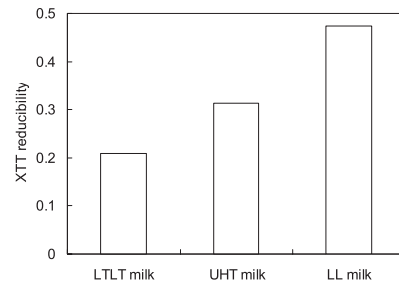


Fig. 2 XTT reducibility of milk sterilized and pasteurized under different conditions. LTLT milk; 65 , 30 min, UHT milk; 130 , 2 sec, LL milk; 140 , 3 sec

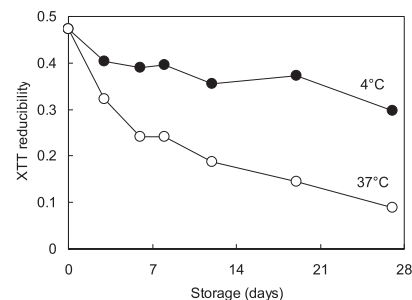


Fig. 3 Changes in the XTT reducibility of LL milk during storage. LL milks were stored at 4°C or 37°C for 4 weeks.

XTT法とは異なる挙動を示すことが明らかとなった<sup>7)</sup>。すなわち、XTT還元性物質は従来法では検出し得ない物質であることが示された。

XTT法の実用化をはかるためには、牛乳中において生成し、かつXTT還元性を有するメイラード反応生成物の特定が必要不可欠である。そこで、牛乳のモデル系としてラクトースとアミノ化合物からなる溶液を使用し、ラクトース関与のメイラード反応において生成するXTT還元性物質の解明に取り組んだ<sup>6, 8)</sup>。その研究過程において、ラクトース-アミノ化合物の加熱溶液は320 nmに特徴的な極大吸収を示すことが判明した。Fig. 4は100 で15分間加熱したラクトース-ブチルアミン溶液にXTT溶液を添加した際のスペクトル変化を示している。XTT添加前には320 nmの極大吸収のみが認められたのに対して、XTTを添加すると、320 nmの吸収が急速に減少し、その一方で470 nm付近の吸収が時間の経過に伴い増加した。この結果は、XTTの添加により320 nmの吸収を示す物質が酸化されて減少し、同時にXTTが還元されてホルマザンに変化し発色したことを示すものである。また、同モデル溶液を80-100 で0-15分間加熱した試料のXTT還元性と320 nmの吸光度の間には、相関係数0.967 (n = 19) の極めて高い直線性が認められた。このことから、XTTの還元に対する320 nmの極大吸収を有する物質の深い関与が示唆された。そこで、本物質の精製を行い、NMR分析を行ったところ、Fig. 5に示した構造を有するアミノレダクトンが同定された<sup>5)</sup>。このアミノレダクトンは二糖類のメイラード反応においてのみ進行する4-デオキシオゾン経路で生成する物質である<sup>9)</sup>。以上の研究結果をもとに、XTT

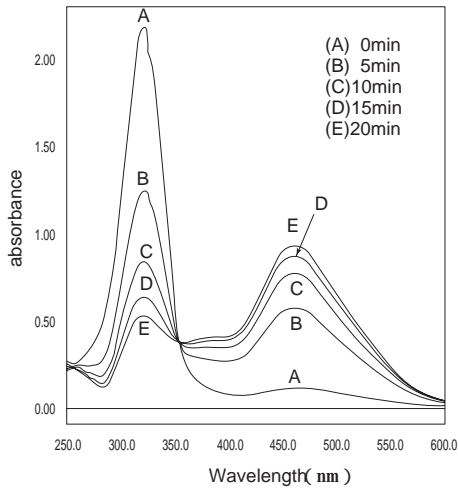


Fig. 4 Spectrum changes of lactose-butylamine heated model solution by the addition of XTT.  
Lactose (262 mM) and butylamine (1.16 M) in 1.28 M phosphate buffer (pH 7.0) were heated at 100°C for 15 min.

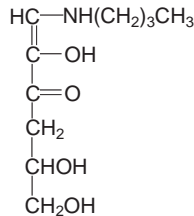


Fig. 5 Structure of aminoreductone formed from lactose and butylamine

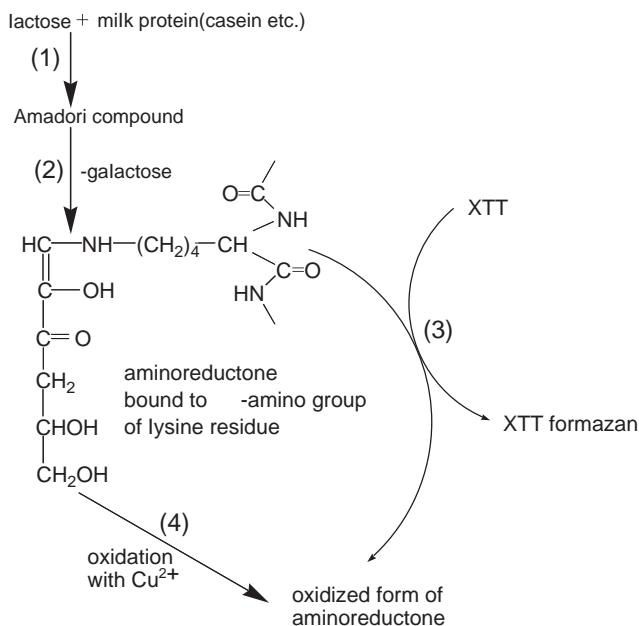


Fig. 6 Proposed principle of the XTT assay

法による牛乳中のメイラード反応生成物検出の原理を Fig. 6 のように提案した。すなわち、(1) 牛乳の加熱殺菌によりラクトースとタンパク質のアミノ基 (N末端,あるいはリジン残基の -アミノ基など) との間でメイラード反応が生じ、アマドリ転移物が形成される。(2) アマドリ転移物からガラクトース部位が脱離した後、4-デオキシグルコソンの生成を経て、タンパク質上にアミノレダクトン構造が形成される。(3) XTT が添加されることにより、アミノレダクトンが酸化される。その一方で、XTT は還元されてホルマザンを生成するというものである。(1) と (2) の反応は加熱殺菌温度と時間に依存して進行することから、XTT 法による牛乳の熱履歴評価が可能になると考えられた。また、貯蔵期間中に認められた XTT 還元性の低下は、Fig. 6 中の (4) の過程に示したように、牛乳に内在する  $\text{Cu}^{2+}$  の作用 (牛乳中の銅濃度は  $30 \mu\text{g/L}$ ) によりアミノレダクトンが酸化されて減少することに起因していると考えられた。試料の前処理を行うことなく比較的初期段階に生成するアミノレダクトンを検出することのできる本法は、利便性が高く、牛乳の製造管理、ならびに品質評価に利用可能であると考えられる。加えて、本法によって得られる情報は、牛乳中の複雑なメイラード反応機構の解明に対して、新しい知見をもたらすものと期待される。

## 2.2 アミノ糖の自己重合反応のモニタリングに対するテトラゾリウム塩 XTT の利用

### 背景

グルコサミンは天然に広く分布し、プロテオグリカンの形で軟骨など多くの動物組織に存在するアミノ糖である。このグルコサミンの硫酸塩は1980年代からヨーロッパにおいて変形性関節症の治療薬として使用されていたが、近年、グルコサミン塩酸塩でも同様の治療効果が得られるとの報告がなされた<sup>10)</sup>。変形性関節症の治療法は対症療法が主であったため、軟骨組織を修復する作用を有するグルコサミンは画期的な物質として認識されるようになってきている。グルコサミン塩酸塩は比較的安価であること、また微生物を用いた変異原性試験やラットを用いた急性毒性試験もクリアしていることから、最近では日本でも関節の機能維持を目的とした栄養補助食品として市場に広く流通している。グルコサミンの有用性が注目される一方で、グルコサミンをはじめとする各種アミノ糖が高い DNA 切断能を示し、特に、 $\text{Cu}^{2+}$  の存在下でその切断能が高くなることが報告されている<sup>11)</sup>。グルコサミンは酸性条件下では安定であるが、中性付近の pH では極めて安定性が低く、容易に自己重合反応 (一種のメイラード反応) を生じ、含窒素複素環化合物を生成する。この自己重合反応生成物の1つであるジヒドロフルクトサジンが DNA 切断能の発現に関与していることが明らかとなっている<sup>11)</sup>。

### グルコサミン自己重合物による XTT 還元機構の解明

グルコサミン塩酸塩 (0.2、0.5、1.0 M) を 0 ~ 24 時間、37 でインキュベーションした際の XTT 還元性の経時変化を Fig. 7 に示した。グルコサミン反応溶液は XTT 還元性を示し、その還元性は反応数時間でピークに達し、その後、低下する傾向を示した。そこで、著者らはグルコサミンの自己重合反応で生成する XTT 還

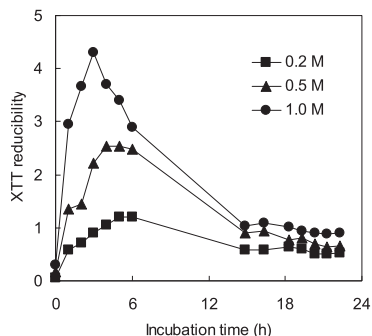


Fig. 7 Time courses of the XTT reducibility of glucosamine. Glucosamine (0.2 M, 0.5 M, or 1.0 M) in 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) was incubated at 37°C for 24 h.

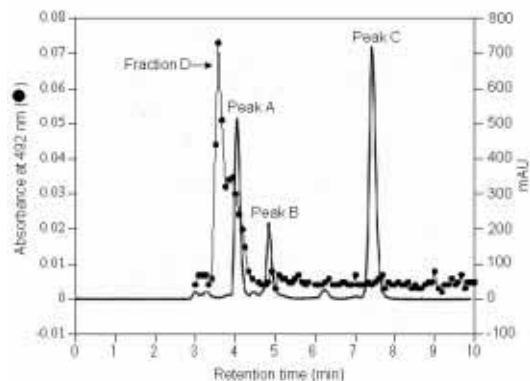


Fig. 8 HPLC chromatogram of the glucosamine derivatives and XTT reducibility of the fractionated eluate ( absorbance at 492nm). Glucosamine (0.5 M) in a 50 mM sodium phosphate buffer (pH7.4) containing 5 μM DTPA was incubated at 37°C for 4 h. The XTT reducibility was measured after the eluate had been fractionated from 3.00 to 10.00 min at intervals of 5 s.

元性物質、ならびにその還元機構の解明に取り組んだ<sup>12)</sup>。37 で 4 時間反応させたグルコサミン溶液の HPLC クロマトグラムを Fig. 8 に示した。クロマトグラム上には主要なピーク A、B、C が認められた。しかし、HPLC 溶出液の XTT 還元性を調べたところ、予想に反してピーク A、B、C は XTT 還元能を有しておらず、XTT 還元性は 274 nm に吸収を示さず、ピーク A、B、C よりも早く溶出される画分 (Fraction D) に認められた。そこで、Fraction D の XTT 還元性に対するグルコサミンのインキュベーション時間の影響を調べたところ、Fraction D の XTT 還元性は反応開始後 5 時間で最大となり、その後、時間経過と共に減少する傾向を示した (Fig. 9)。この挙動は Fig. 7 と酷似していたことから、XTT 還元物質は Fraction D であると考えられた。また、Fraction D を分画後に再インキュベーションした溶液を HPLC 分析したところ、そのクロマトグラム上にはピーク A、B、C が出現したことから、Fraction D はピーク A、B、C の前駆体であることが判明した。さらに、XTT と Fraction D を反応させた後の溶液を HPLC 分析したところ、ピーク A が検出された。従って、Fraction D は XTT に

酸化された後、ピーク A の物質に変化することが明らかとなった。続いて、各生成物の LC/MS、FAB/MS、NMR による構造解析を行った。その結果より、ピーク A、B、C および Fraction D の分子量はそれぞれ、320、304、304、322 であることが明らかとなった。また、既報<sup>13)</sup>との NMR シグナルの一致から、ピーク A はフルクトサジン、ピーク C はデオキシフルクトサジンであることが判明した。ピーク B と Fraction D はその不安定さゆえに NMR 分析を行うことはできなかったが、分子量が 320 であること、XTT の添加に伴う酸化によってフルクトサジンに変化することから、Fraction D はフルクトサジンの前駆体であるジヒドロフルクトサジンであると考えられた。ピーク B に相当する物質についての報告はなされておらず、その構造を明らかにすることはできなかった。

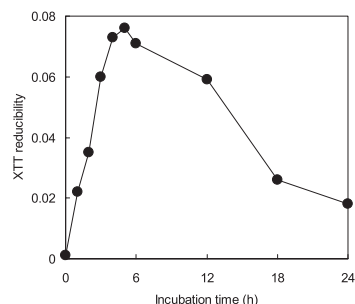


Fig. 9 Time course of the XTT reducibility of Fraction D.

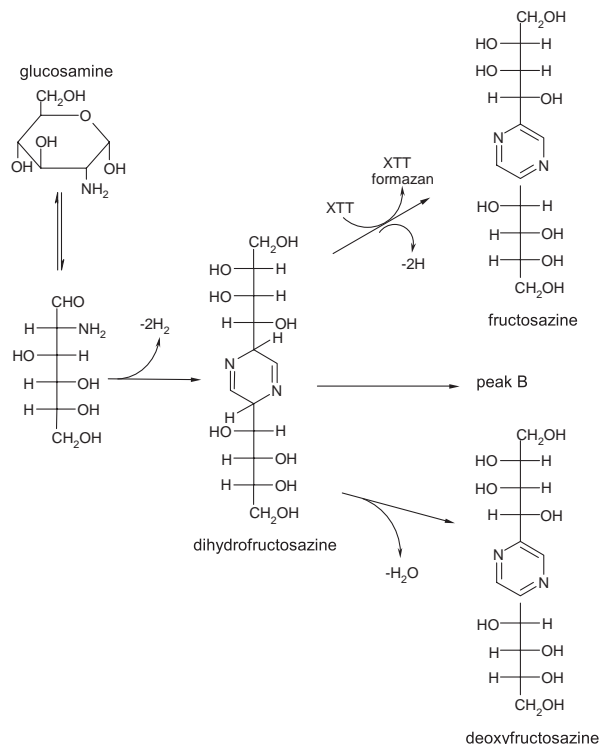


Fig. 10 Reduction mechanism of XTT by glucosamine derivative

以上の結果を総合して、グルコサミン自己重合物によるXTT還元機構を Fig. 10 のように提案した。すなわち、(1) 2分子のグルコサミンが自己重合 (一種のメイラード反応) してジヒドロフルクトサジンが生成する。(2) ジヒドロフルクトサジンは溶存酸素により酸化されて、フルクトサジンへと変化する。

しかし、XTT が共存する場合は、XTT により即座にフルクトサジンへと酸化される。その一方で、XTT は還元されてホルマザンへと変化する。本研究においてXTT法により検出可能であることが判明したジヒドロフルクトサジンは、グルコサミン (および各種アミノ糖) のDNA切断能に深く関与している物質であることが報告されている<sup>11)</sup>。従って、XTT法はグルコサミンをはじめとする各種アミノ糖の自己重合反応のモニタリングだけでなく、そのDNA切断能の評価にも利用可能であることが明らかとなった<sup>14)</sup>。

### 2.3 生体内メイラード反応で生じる $O_2^-$ の検出に対する WST-1 の利用

#### 背景

生体内メイラード反応、すなわち、生体内で生じるアミノ化合物とカルボニル化合物の非酵素的褐変反応は糖尿病、白内障、アルツハイマー病といった様々な病気につながるタンパク質の損傷を引き起こすと考えられている<sup>15)</sup>。さらに糖尿病では、メイラード反応によりスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性が低下することから、酸化ストレスに対する防御能も低下し、様々な合併症を引き起こすことが知られている。例えば、白内障は水晶体が活性酸素による攻撃から保護されなくなった結果生じる合併症のひとつである。また、メイラード反応で修飾を受けたタンパク質によってスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) が生成されることが知られており、この  $O_2^-$  が組織の損傷に関係していると考えられている。従って、メイラード反応やそれに伴い生成する  $O_2^-$  と様々な疾病との関係を解明する為には、 $O_2^-$  の検出が不可欠である。生体内メイラード反応に伴う  $O_2^-$  の測定には、従来、分光法のシクロロム *c* 法やニトロブルーテトラゾリウム法、化学発光法、電子スピン共鳴法などが用いられてきた<sup>16)</sup>。しかしながら、従来法には  $O_2^-$  に対する特異性が低い、不溶性ホルマザンが生成される、高価な機器を必要とするなどの欠点がある。そこで、これらの欠点を解決するため、分光学的な  $O_2^-$  の発色プローブとして、これまでに SOD 活性の測定に利用されてきた高水溶性テトラゾリウム塩 WST-1<sup>16)</sup> (Fig. 11) を生体内メイラード反応において生成する  $O_2^-$  の検出に適用した<sup>17)</sup>。その内容の一部を以下で紹介する。

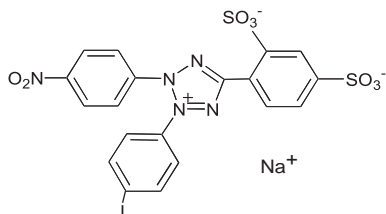


Fig. 11 Structure of WST-1

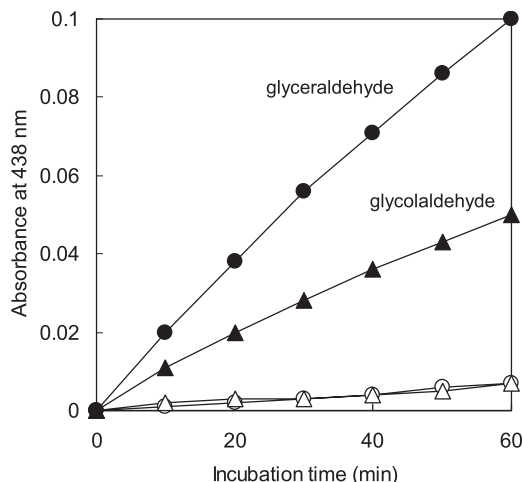


Fig. 12 Time courses of the absorbance change by the WST-1 assay. DL-Glyceraldehyde or glycolaldehyde (5 mM),  $N^{\epsilon}$ -acetyl-L-lysine (10 mM) and DTPA (50  $\mu$ M) in 50 mM chelex-treated phosphate buffer (pH 7.0) were incubated for 2 days at 37°C. The assay was performed in the absence (○, △) and the presence (●, ▲) of SOD.

#### WST-1 の適用

生体内メイラード反応の関連物質である DL-グリセルアルデヒド、またはグリコールアルデヒドと  $N^{\epsilon}$ -アセチルリジンを 37 °C で 2 日間インキュベーションした溶液 0.4 mL に 2 mM WST-1 溶液 (pH 7.0 のリン酸塩緩衝液で調製) 1.0 mL を添加し、10 分間隔で 60 分間にわたり 438 nm の吸光度を測定した結果を Fig. 12 に示した。測定の結果より、DL-グリセルアルデヒドとグリコールアルデヒドの両方の系において、WST-1 の還元型ホルマザンに由来する吸光度の増加が認められることが明らかとなった。

そこで、この発色が試料中に存在する  $O_2^-$  による還元作用によるものであるか否かを確認するため、測定系に SOD を添加したところ、DL-グリセルアルデヒドの系で 93%、グリコールアルデヒドの系で 86% の発色が阻害された (Fig. 12)。SOD と同様に  $O_2^-$  のスカベンジャーとして知られている Tiron を添加した場合にも、SOD 添加時と同程度の発色の阻害が認められた。このことから、WST-1 の発色のほとんどがメイラード反応に伴って生成した  $O_2^-$  に依存していることが示唆された。同様の実験をシクロロム *c* で行ったところ、シクロロム *c* の吸収は SOD や Tiron の添加で、21 ~ 40% しか阻害されなかった。このことから、メイラード反応系の  $O_2^-$  の検出においても、WST-1 がシクロロム *c* よりも優れた発色プローブであることが明らかとなった。 $O_2^-$  に対する特異性が高い WST-1 を用いることにより、生体内メイラード反応で生成する  $O_2^-$  の正確な検出、および定量を行うことが可能となり、疾病との関連をより詳細に調べることができるようになるものと期待される。

### 3. おわりに

食品中、あるいは生体内で生じるメイラード反応の概要、ならびに著者らが報告してきたテトラゾリウム塩を利用したメイラード反応生成物の検出法についての概要を紹介した。メイラード反応は極めて複雑で、今現在でも未知の部分が多いが、それゆえ興味を惹かれる反応でもある。今後は、上記で紹介した検出法を駆使しながら、メイラード反応機構の解明に取り組みたい。

#### 参考文献

- 1) 受田浩之、石井利直、FFI ジャーナル、**171**、84-91 (1997).
- 2) M. Pischetsrieder and T. Severin: In "Chemical markers for processed and stored foods" eds. T.-C. Lee and H.-J. Kim, Washington, DC, ACS Symposium Series, pp. 14-23 (1996).
- 3) M. A. J. S. van Boekel, *Food Chem.*, **62**, 403-414 (1998).
- 4) H. Ukeda, Y. Goto, M. Sawamura, H. Kusunose, H. Kamikado, and T. Kamei, *Food Sci. Technol., Int.*, **2**, 48-50 (1996).
- 5) H. Ukeda, T. Shimamura, T. Hosokawa, Y. Goto, and M. Sawamura, *Food Sci. Technol., Int.*, **4**, 258-263 (1998).
- 6) T. Shimamura, H. Ukeda, and M. Sawamura, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 6227-6229 (2000).
- 7) 島村智子、受田浩之、沢村正義、日本食品科学工学会誌、**48**、840-843 (2001).
- 8) T. Shimamura, H. Ukeda, and M. Sawamura, *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 6-9 (2004).
- 9) C. Schoetter, M. Pischetsrieder, H. Lerche, and T. Severin, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7369-7370 (1994).
- 10) 梶本修身、坂本廣司、高森吉守、梶谷典正、今西利之、松尾龍之介、梶谷祐三、日本臨床栄養学会雑誌、**20**、41-47 (1998).
- 11) N. Kashige, T. Yamaguchi, N. Mishiro, H. Hanazono, F. Miake, and K. Watanabe, *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 653-658 (1995).
- 12) T. Shimamura, A. Takamori, H. Ukeda, and M. Sawamura, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 295-299 (2003).
- 13) K. Sumoto, M. Irie, N. Mibu, S. Miyano, Y. Nakashima, K. Watanabe, and T. Yamaguchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 792-794 (1991).
- 14) T. Shimamura, A. Takamori, H. Ukeda, S. Nagata and M. Sawamura, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1204-1209 (2000).
- 15) N. Ahmed, *Diabetes Research and Clinical Practice*, **67**, 3-21 (2005).
- 16) 受田浩之、*Dojin News*, **112**、1-8 (2004).
- 17) H. Ukeda, T. Shimamura, M. Tsubouchi, Y. Harada, Y. Nakai, and M. Sawamura, *Anal. Sci.*, **18**, 1151-1154 (2002).

#### 著者紹介

氏名：島村智子 (Tomoko Shimamura)

所属：高知大学農学部

連絡先：〒783-8502 高知県南国市物部乙200

E-mail: tomokos@kochi-u.ac.jp

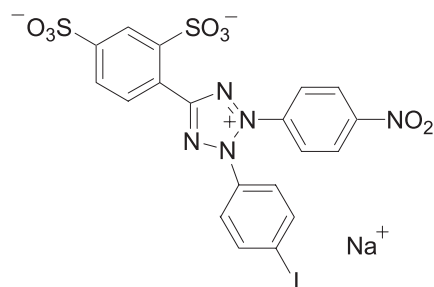
出身大学：愛媛大学大学院連合農学研究科

学位：博士（農学）

研究テーマ：メイラード反応の機構解明、地域資源の有する機能性の解明

### 関連商品

#### WST-1



還元型発色試薬のテトラゾリウム塩類は生化学分野で広く利用されている。しかし、代表的なテトラゾリウム塩であるMTTは生じるホルマザンが水に難溶性な結晶として細胞表面に析出するため、吸光度測定時には、それを溶解させ均一溶液にする操作が必要になる。しかし、水溶性ホルマザンを生じるテトラゾリウム塩WST-1は1-Methoxy PMSを電子キャリアーとして用いると、脱水酵素により還元され黄色ホルマザン ( $\lambda_{\max}=438 \text{ nm}$ ,  $\epsilon=3.7 \times 10^4$ ) を生じる。生じたホルマザンは0.1 mol/l以上の濃度で水に溶解する。

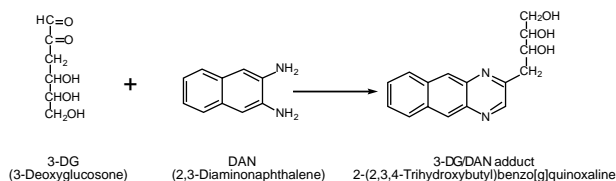
#### 3-Deoxyglucosone Detection Reagents

セット内容

DAN 10 mg × 1

3-DG/DAN adduct 1 mg × 1

生体内に存在する3-Deoxyglucosone (3-DG) の高感度定量が可能である。生体内3-DGの検出法は現在、HPLCによる方法とMSによる方法が用いられているが、特にHPLC法では3-DGの反応性を利用して2,3-Diaminonaphthalene(DAN)と反応させ、生じた蛍光付加体を検出する方法が知られている。本品は、DANと3-DG/DAN adductをセットにしたものである。3-DG/DAN adductは3-DGとDANが縮合反応して生成する蛍光物質で、3-DGのHPLC分析の際に検量線作成用の標準物質として使用する。



品名	容量	価格(¥)	コード	メーカーコード
WST-1	25 mg	8,600	342-06451	W201
	100 mg	18,600	348-06453	W201
	500 mg	62,800	346-06454	W201

#### 3-Deoxyglucosone Detection Reagents

1 set 19,600 — D536



## タンパク質標識用キット (1 mg タンパク質標識用)

## 新製品

Peroxidase Labeling Kit - NH<sub>2</sub>(for 1mg)

Peroxidase Labeling Kit -NH<sub>2</sub>は、アミノ基を有する分子にペルオキシダーゼを標識するためのキットです。NH<sub>2</sub>-Reactive Peroxidaseは、その構造内に活性エステル基を有しているため、従来の0.1 mgタンパク質標識用キットと同様にアミノ基を有する標的分子と混合するだけで、安定な共有結合を形成します。

イムノグロブリンG(IgG)のような分子量の大きい分子をサンプルに使用する場合、ペルオキシダーゼ活性や標識反応を阻害するような低分子化合物(アジ化ナトリウム、トリスまたはグリシン)などは、付属のFiltration Tubeを用いた前処理によって除去されるため、透析やゲルろ過などの処理は不要です。また、低分子化合物を標識する場合、未反応の低分子化合物はFiltration Tubeを用いた精製操作により除去されるため、高純度のペルオキシダーゼ標識体を得ることができます。

## &lt;特長&gt;

- 1mgのタンパク質を標識可能である。
- 高分子化合物(MW>50,000)および低分子化合物(MW<5,000)を標識できる。
- NH<sub>2</sub>-Reactive Peroxidaseと混合するだけでペルオキシダーゼ標識体を形成する。
- Filtration Tubeを用いた分離操作により高い回収率で標識体を得られる。

## &lt;キット内容&gt;

• NH <sub>2</sub> - Reactive Peroxidase	1 mg	X 1
• Washing Buffer	10 ml	X 1
• Reaction Buffer	1.2 ml	X 1
• Storage Buffer	10 ml	X 1
• Filtration Tube *1		X 1
• 15 ml Tube (for counterbalance)		X 1

## 試作品

Biotin Labeling Kit - NH<sub>2</sub> (for 1mg)

Biotin Labeling Kit - NH<sub>2</sub>は、アミノ基を有するタンパク質、特に抗体ヘビオチンを標識するためのキットです。キット付属のNH<sub>2</sub>-Reactive Biotinは、その分子内に活性エステル基を有しているため、アミノ基を有する標的分子と混合するだけで安定な共有結合を形成します。イムノグロブリンG(IgG)のような高分子タンパク質にビオチンを標識する場合、標識反応を阻害するような低分子化合物(トリスなど)や未反応のNH<sub>2</sub>-Reactive Biotinは付属のFiltration Tubeを用いて容易に除去することができます。

本製品は、アミノ基を有する分子にビオチンを標識するためのキットです。従来の0.1mg タンパク質標識用キットと同様に、Reactive Biotinと標的分子を混合するだけで簡単にビオチン標識体を得ることができます。

## &lt;特長&gt;

- 1 mgのタンパク質を標識可能である。
- NH<sub>2</sub>-Reactive Biotinと混ぜるだけで、ビオチン標識体が調製できる。
- Filtration Tubeを用いた分離操作により高い回収率で標識体を得られる。
- 付属の保存溶液でビオチン標識体の長期保存ができる。

## &lt;キット内容&gt; 1 サンプル標識用

• NH <sub>2</sub> -Reactive Biotin	x 1
• Reaction Buffer	2 ml x 1
• WS Buffer	15 ml x 1
• Filtration Tube	x 1
• 15 ml Tube (for counterbalance)*1	x 1

\*1 Filtration Tubeを使用する際は、15 ml容量の遠沈管に対応する遠心機が必要です。6,000 xgでの遠心を推奨しますが、6,000 xg以下の場合でも遠心時間を延長することで対応可能です。

品名	容量	価格(¥)	メーカーコード
Peroxidase Labeling Kit - NH <sub>2</sub> (for 1mg)	1samples	30,000	LK51

# エイズから見た 感染症研究の最前線

## その2 HIV-1 とレセプター

熊本大学大学院医学薬学研究部感染防御学分野 前田洋助

### 1. HIV-1 受容体としての CD4 分子の発見

ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) の主要な受容体が CD4 分子であることは、AIDS の病原体としての HIV-1 発見と同年の 1984 年と比較的早い段階で明らかになった。これは、このウイルスが増殖し細胞死を誘導する細胞が、主に CD4 陽性の T リンパ球やマクロファージであることがその大きな理由である。実際に CD4 分子に対するある種のモノクローナル抗体が感染を完全に阻害することや、CD4 を発現していないヒトの上皮系細胞に CD4 を強制発現させると感染が成立することなどの知見から、CD4 分子が主要な HIV の受容体であることが明らかにされた。しかしながらマウス細胞にヒト CD4 を強制発現させても感染が成立しないことから、何らかの CD4 以外のヒト由来の分子が補助受容体 (コレセプター) として必要であることが当時から想定されていた。実際に HIV-1 感染者からウイルスを分離してみると、CD4 陽性の末梢血 T リンパ球とマクロファージで増殖可能なウイルスと、CD4 陽性の T リンパ球と T 細胞株で増殖するウイルスの 2 種類が存在しており、ヒトの細胞においても CD4 分子だけではその細胞指向性は説明できなかった。前者はマクロファージで増殖可能なウイルスということからマクロファージ指向性ウイルスと、後者は T 細胞株で増殖可能なことから T 細胞株指向性ウイルスと分類された。また末梢血 T リンパ球、マクロファージ、T 細胞株のすべてで増殖可能なウイルスは両細胞指向性ウイルスと呼ばれた。興味深いことに、通常は感染全体を通じてマクロファージ指向性ウイルスが分離されるが、同じ患者でも AIDS 発症など病態の悪化した患者からのみ T 細胞株に感染可能なウイルスである T 細胞株・両細胞指向性ウイルスが分離された (図 1)。このような知見から、マクロファージ指向性ウイルスは持続感染成立に重要であり、一方 T 細胞株・両細胞指向性ウイルスは AIDS 病態に関与していることが示唆された。

### 2. 補助受容体の発見

CD4 分子が HIV-1 の受容体であることが発見されてから 10 年以上の年月を経て、1996 年にケモカイン受容体の CXCR4 と CCR5 分子が HIV の補助受容体として同定された。CXCR4 分子は T 細胞株指向性ウイルスの感染可能な細胞から cDNA ライブラリーを構築し、ヒト CD4 分子を発現したマウスの細胞に導入し、その中から T 細胞株指向性ウイルスエンベロープと細胞融合する細胞クローンを選択し、その遺伝子が同定された。実際にその正常リガンドである SDF-1 $\alpha$  を感染系に添加すると感染が阻害され

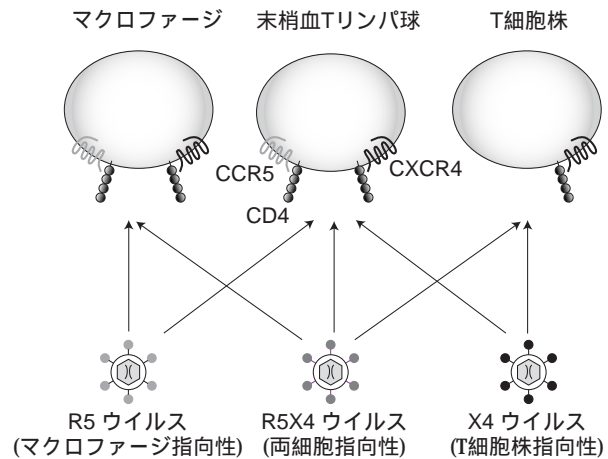


図1 HIV の細胞指向性と補助受容体利用性

た。一方マクロファージ指向性ウイルスの感染がケモカインである MIP-1 $\alpha$  (CCL3)、MIP-1 $\beta$  (CCL4)、RANTES (CCL5) で阻害できることから、その共通の受容体である CCR5 分子がマクロファージ指向性ウイルスの補助受容体として同定された。すなわち CXCR4 を補助受容体として使用するウイルスが T 細胞株指向性ウイルスであり、CCR5 を利用するウイルスがマクロファージ指向性ウイルスだったわけである (図 1)。実際に T 細胞株においては CCR5 がまったく発現していないため、CCR5 を利用するマクロファージ指向性ウイルスは感染しなかったわけである。さらに同様の検索からケモカイン受容体を中心とした種々の補助受容体分子群が同定されたが、これらの臨床的意義については未だによくわからない。しかしながらこれらの分子群に共通している事は、すべて G 蛋白質共役型受容体 (G protein-coupled receptors, GPCR) と呼ばれる 7 回膜貫通蛋白質であり、これらの立体構造がウイルス侵入に重要な働きをしていると考えられている。現在ではこのような補助受容体利用能の差異を指標として HIV の機能的分類がなされており、CXCR4 を補助受容体として利用するものを X4 ウイルス、CCR5 を利用するものを R5 ウイルス、両者を利用する能力をもつものを R5X4 ウイルスと呼ぶ (図 1)。

### 3. ウイルスエンベロープとレセプター分子の相互作用による吸着侵入過程 (図 2)

一方、CD4 と結合するウイルス側蛋白質は gp120 と呼ばれるウイルス粒子の表面から突出したエンベロープスパイクであるが、この gp120 が CD4 分子と結合後に立体構造変化をおこし、補助受容体と結合できる状態になる。さらに gp120 と会合しているウイルス膜にアンカーされた蛋白質である gp41 の N 末端に存在する疎水性のアミノ酸で形成されるフージョンペプチドが標的細胞の脂質二重膜に突き刺さる。引き続き gp41 の細胞外に存在している 2 個の  $\alpha$ -ヘリックス構造がお互いに反応することでヘアピン構造をとり、その結果ウイルスと標的細胞が近接し、最終的に膜融合がおこり、ウイルスは自身のゲノムを細胞内に侵入させること

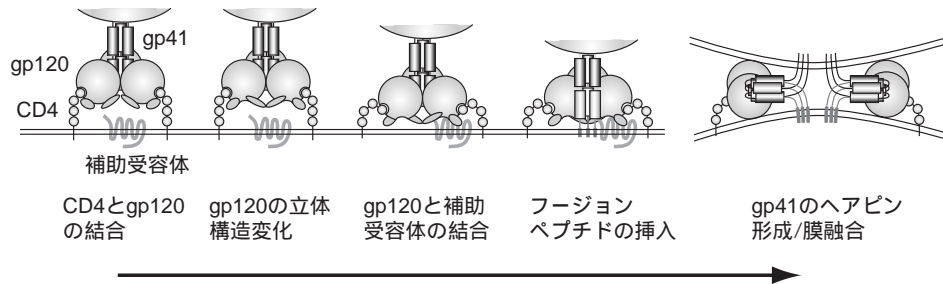


図2 HIV-1の標的細胞への吸着侵入過程

ができる。gp120は個々のウイルス株間で変異が激しいことが知られていたが、このgp120の第3番目の可変領域（V3領域）が主にその補助受容体の利用性ならびに細胞指向性を決定していることが明らかとなっている。

#### 4. 補助受容体の臨床的意義

感染のハイリスクでありながら感染抵抗性である個体が補助受容体発見以前より報告されていたが、この原因がCCR5の遺伝的欠損で説明できることがHIV-1の補助受容体としてのCCR5発見からほどなくして明らかとなった。すなわち、これらの感染抵抗性の個体においてはCCR5遺伝子中に32塩基の欠損がホモ接合型で存在しており、その結果CCR5が膜上に発現できないためCCR5を利用するR5ウイルスが感染できなくなっていたのである。一方でこのような個体ではCXCR4の発現は正常であり、R5X4・X4ウイルスは感染可能であったにも関わらず、HIV-1感染から逃れることができているわけであり、ヒトからヒトへの感染ではR5ウイルスのみが感染を成立させるために重要なウイルスということになる。興味深いことに、この欠損には人種差があり、欧米人を中心とするコーカサス人に頻度が高く、またこれらの個体は一見なら病気を発症せず健康であった。このことはCCR5を標的とした感染予防や治療法が有効ということを意味している。実際、種々のCCR5に結合する薬剤が開発され、すでに臨床治験中であり、逆転写阻害剤やプロテアーゼ阻害剤に耐性のウイルス治療に臨床で使用される日も近い。一方、X4・R5X4ウイルスは感染後期に出現し、急速なCD4陽性T細胞数の低下の原因の一つではないかと考えられているが、すべてのAIDS患者からCXCR4利用性を獲得しているウイルスが分離されるわけではなく、その意義については現在でも混迷している。またCXCR4は造血系、血管形成、神経系等に対して重要な働きをしており、CXCR4の阻害剤が実際に臨床で使用できるかどうかは現時点ではわからない。

#### 5. 終わりに

HIVとそのレセプターの研究は単なるウイルスの侵入機構を理解するだけでなく、HIV感染の成立機構や病態との関連、治療への応用など臨床と密接に関連している。基礎と臨床との連携が、飛躍的な学問の進展ならびに臨床病態の理解や治療への応用につながることを忘れてはいけない。

#### 筆者紹介



氏名：前田 洋助

所属：熊本大学大学院医学薬学研究部感染防御分野

住所：熊本市本荘 1-1-1

研究テーマ：レトロウイルスの宿主細胞への侵入機構の解明

HIVの抗HIV剤に対する耐性獲得機構の解明

#### 学会展示のお知らせ

日本農芸化学会 2007年度大学附設展示会

期日：2007年3月25日（日）～27日（火）

場所：東京農業大学世田谷キャンパス

桜丘アリーナ2F（体育館）

小間No.66

展示内容

・タンパク質標識用キット

・遺伝子導入試薬

・酸化ストレス関連試薬

皆様のお越しをお待ちしております。

# Topics on Chemistry

## 亜鉛二核錯体複合体を用いた細菌のイメージング

株式会社同仁化学研究所 江副 公俊

細菌のイメージング技術の発展は、健康・環境分野における応用として非常に期待されている。わずかな病原性細菌を高感度に検出する必要がある食品や飲料水などの食品分野がその代表的な例である。また、細胞に感染している細菌を選択的に認識・検出することができれば、免疫システムの解析や抗菌剤候補を選定する場合などにおいて、非常に有効な手法となる。

最近Smithらが、ある近赤外蛍光プローブを用い *in vivo* イメージングが可能であるという研究の成果を報告した<sup>1)</sup>。ここにその手法を、バックグラウンドを交えながら紹介する。

当初、Smithらはリン酸と高い結合性を有する亜鉛二核錯体に注目した。

彼らは、アントラセン蛍光色素との複合体(プローブ1)(Fig.1)を用い、Jurkat細胞において、正常な細胞と対比してアポトーシス状態である細胞のみを選択的に認識できることを発見した<sup>2)</sup>。アポトーシス初期段階では細胞表面層にホスファチジルセリン(PS)が露出してくる。このため、アポトーシスを識別する上で、この細胞表面層のアニオン電荷を持つPSは格好の目印となる。PSは陰イオン性であるため、亜鉛二核錯体(陽イオン性)を認識素子としてもつ(プローブ1)と高い結合を示す(Fig.2)。

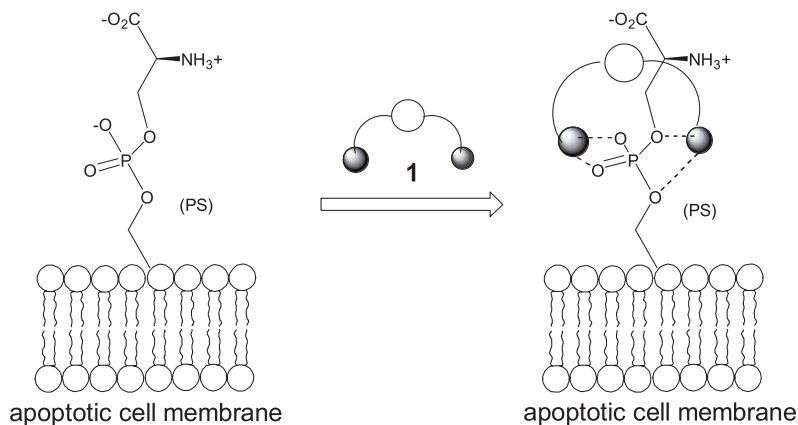
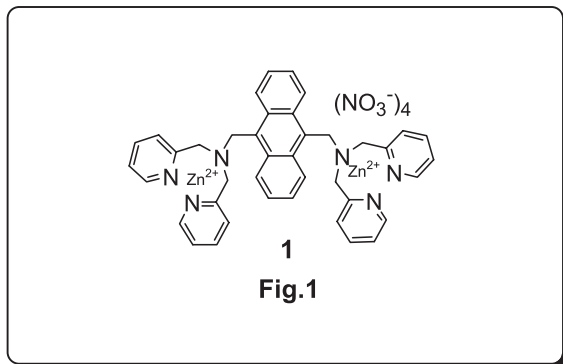
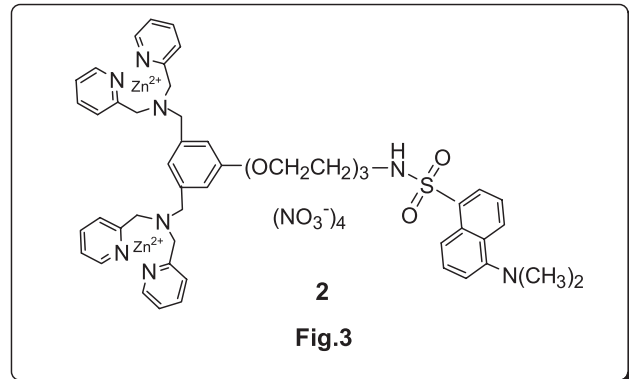


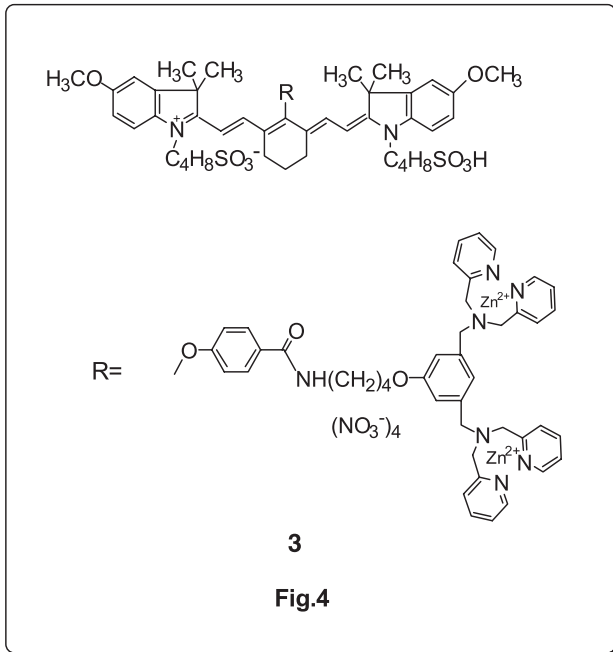
Fig.2 蛍光プローブ1によるアポトーシスの検出



この陰イオン認識性という亜鉛二核錯体の特徴に着目したSmithらは、細胞膜にホスファチジルグリセロールなどのリン脂質があることで膜表面がマイナス帯電している細菌の認識も可能ではないかと考えた。そこで、アントラセン基に変え、蛍光団としてダンシル基を有する新たな蛍光プローブ2(Fig.3,  $\lambda_{ex} = 355$  nm  $\lambda_{em} = 560$  nm)を作成した。

Smithらはこのプローブ2を使って、ヒトの唾液を検体とし、蛍光イメージング実験を行った。その結果、動物細胞が共存している中から、選択的に *E. coli*, *P. aeruginosa* (グラム陰性菌) や *S. aureus* (グラム陽性菌) だけを認識し蛍光検出することに成功した<sup>3)</sup>。

これら *in vitro* での結果を基に、Smithらは次なるステップとして *in vivo* イメージングを試みた<sup>1)</sup>。ここで用いたものが、近赤外蛍光プローブと亜鉛二核錯体との複合体(プローブ3)(Fig.4,  $\lambda_{max abs}: 794$  nm,  $\lambda_{em} = 810$  nm)である。



彼らはヌードマウスを用いて実験を行った。まず、ヌードマウス大腿筋に細菌を感染させる。その後、直ちに、静脈注射により近赤外蛍光プローブ**3**を投与する。プローブは血流によって、細菌感染した大腿部にまで運ばれ、陰イオン性の細菌膜表面を認識し選択的に結合する。こうしてプローブが徐々に患部（投与した大腿部）に集積され、18時間後には最も強い蛍光が観察された（Fig.5）。

亜鉛二核錯体がリン酸に対して選択的な標識能力を持つということを利用すれば、高感度検出やイメージングといった分野など幅広い応用が可能になるのではないかと考える。更なる研究が重ねられると共に、興味深い成果が得られることに期待したい。

参考文献

- 1) W.Matthew Leevy, Seth T. Gammon, Hua Jiang, James R. Johnson, Dustin J. Maxwell, Erin N. Jackson, Manuel Marquez, David Piwnica-Worms, and Bradley D. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 16476-16477.
- 2) C.Lakshmi, Roger G. Hanshaw and Bradley D. Smith, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 11307-11315.
- 3) W.Matthew Leevy, James R. Johnson, C. Lakshmi, Joshua Morris, Manuel Marquez and Bradley D. Smith, *Chem.Commun.*, **2006**, 1595-1597.

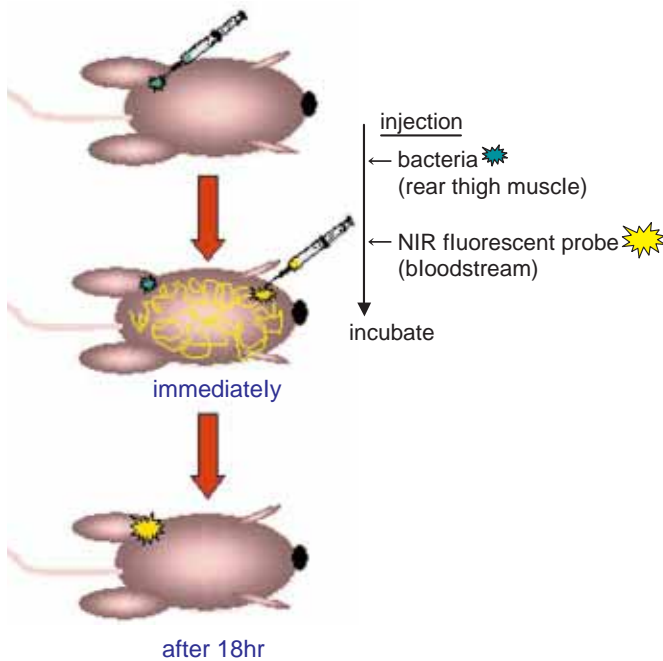


Fig.5 ヌードマウスによる蛍光イメージング

変更のお知らせ

**NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> Assay kit-FX(Fluorometric)**

~ 2,3-Diaminonaphthalene Kit ~

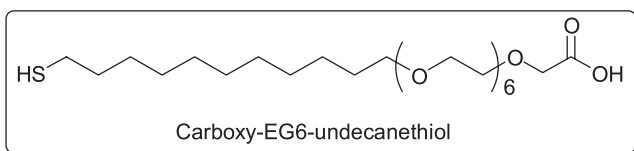
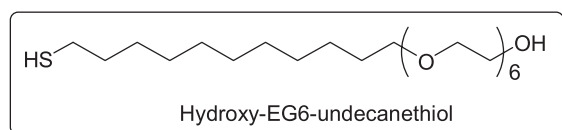
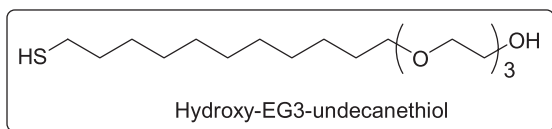
の中に含まれているFluorescence Reagent (DAN) Solutionの容器キャップ(内蓋)を変更しました。

外観上の変更はありません。

取扱い・操作はこれまでと同様ですので、引き続きのご愛顧をお願いいたします。



## Self Assembled Monolayer 研究用試薬



## &lt; 特長 &gt;

- 非特異的吸着の少ない SAM を形成できる
- 蛋白質、抗体をはじめとして様々な物質を SAM 上に固定化できる ( Carboxy type )
- 他社品と比較して高純度である

固体表面に種々の分子を配向・集積させる方法の一つである自己組織化法は、簡便に高密度・高配向な自己組織化単分子膜 ( Self-Assembled Monolayers: SAMs ) を構築することができるため、研究・応用が活発に行われています。特に、末端にチオールを有する化合物は金表面と反応して Au-S 結合し、安定な SAMs を形成することから汎用されています。

SAMs の性質は、そのアルキル鎖長や末端の官能基、主鎖の親水性などにより変化し、多彩な機能を固体表面に導入することが可能であり、表面プラズモン共鳴 ( SPR ) や水晶振動子マイクロバランス ( QCM ) など、金属板を利用するセンサーに広く用いられています。SPR や QCM を用いた測定においては、特異的吸着と非特異的吸着を区別することが困難なため、非特異吸着を抑制することが重要となります。

近年、蛋白質等の表面固定化に蛋白質や細胞の吸着を抑制する効果があるオリゴエチレングリコールを導入した SAMs 試薬が頻繁に用いられています。

Whitesides らは、Carboxy-EG6-undecanethiol と Hydroxy-EG3-undecanethiol を混合した SAM を作製し、非特異吸着の抑制効果があることを実証し、更に ovalbumin, cytochrome C をはじめとした、様々な蛋白質を固定化しています<sup>1)</sup>。他にも、大腸菌の検出<sup>2), 3)</sup> や Cell Lysate 中の蛋白質検出<sup>4)</sup> など数多くの報告がなされています。

小社の SAM 試薬は高純度であり、単分子膜形成を阻害する可能性が有る不純物をほとんど含んでおりません。参考として、他社製品と純度比較をした HPLC データを右に示します。

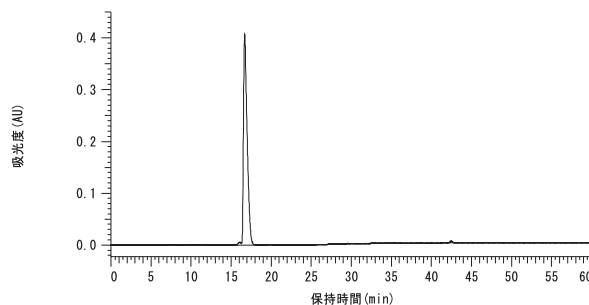
## 参考文献

- 1) C. Pale-Grosdemange, E. S. Simon, K. L. Prime and G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 777-790.
- 2) A. Subramanian, J. Irudayaraj and T. Ryan, *Biosensors and Bioelectronics*, **2006**, *21*, 998-1006.
- 3) X. Qian, S. J. Metallo, I. S. Choi, H. Wu, M. N. Liang and G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, **2002**, *74*, 1805-1810.
- 4) M. Kyo, K. Usui-Aoki and H. Koga, *Anal. Chem.*, **2005**, *77*, 7115-7121.

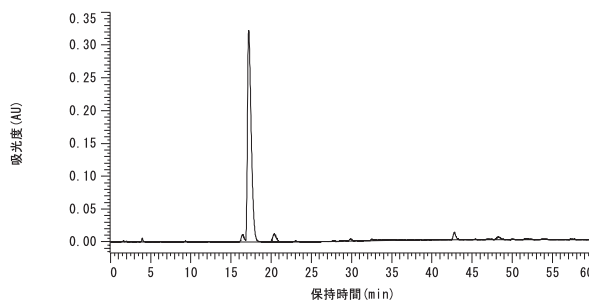
## &lt; 他社製品との純度比較 &gt;

## Hydroxy-EG3-undecanethiol

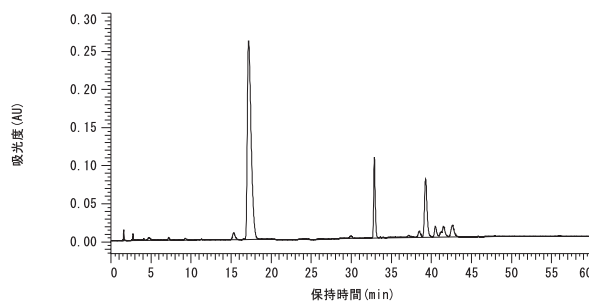
## Dojin 品



## P 社品



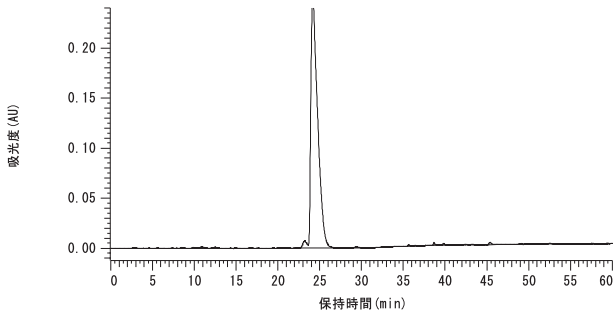
## S 社品



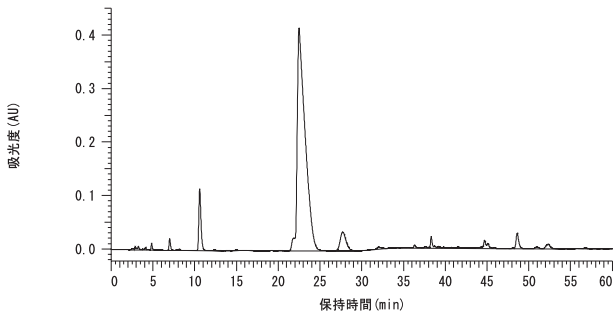
Self Assembled Monolayer 研究用試薬

Carboxy-EG6-undecanethiol

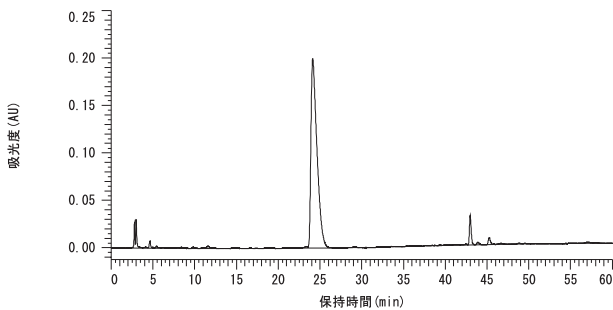
Dojin 品



P 社品



S 社品



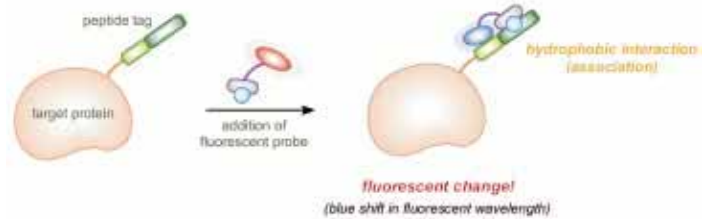
品名	容量	価格(¥)	メーカーコード
Hydroxy-EG3-undecanethiol	10 mg	14,400	H354
	100 mg	36,000	H354
Hydroxy-EG6-undecanethiol	10 mg	18,000	H355
	100 mg	38,800	H355
Carboxy-EG6-undecanethiol	10 mg	24,000	C445
	100 mg	60,000	C445

九州大学 - 同仁化学組織対応型連携に関するお知らせ

九州大学と小社は、九州大学での優れた研究成果を迅速に実用化することを目的に組織対応型(包括的)連携契約を締結しております。下記の技術に関して現在実用化を検討しております。これらにご興味ございましたら小社までお問い合わせ下さい。

No.001 タンパク質蛍光標識技術

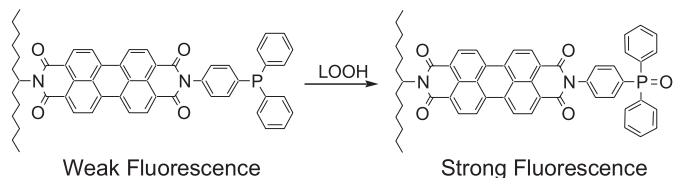
九州大学の宗らは、場感受性の蛍光基であるダンシル基を Ni-NTA 錯体に結合した新規キレート錯体化合物が、ヒスチジンタグの近傍に疎水的なトリプトファンを複数個有するペプチドタグ (His<sub>6</sub>-Trp<sub>n</sub>) と結合することで、蛍光強度の増大と最大蛍光波長のブルーシフトを示すことを見出した。これは、タンパク質を効率的に蛍光標識するための全く新しい技術であり、細胞内のタンパク質の動態研究等に有用であると期待される。



・ N. Soh, D. Seto, K. Nakano and T. Imato, *Mol. BioSyst.*, **2006**, 2, 128-131.

No.002 過酸化脂質計測用蛍光試薬

九州大学の宗らは、新規の過酸化脂質蛍光検出試薬として spy-HP (swallow-tailed perylene derivative for hydroperoxide) を開発した。spy-HP はトリフェニルホスフィンに蛍光基であるペリレン類を連結した構造であり、また脂質への親和性を向上するためアルキル鎖を有している。spy-HP に脂溶性過酸化物である *m*-chloroperoxybenzoic acid (MCPBA) を添加すると、ホスフィンオキシド体の形成に伴い蛍光が大きく増強することが確認された。本化合物の蛍光波長は十分に長く ( $\lambda_{ex} = 524 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 535 \text{ nm}$  in methanol), DPPP のような短波長励起が必要な従来の過酸化脂質計測用蛍光試薬で問題となる生体試料由来の自家蛍光の影響や生細胞へのダメージを大きく軽減できる。また本化合物の反応体 (ホスフィンオキシド体) の蛍光量子収率は極めて高くなっている ( $\sim 1$  in methanol)。このように本試薬は、過酸化脂質計測用蛍光試薬として非常に優れた特徴を有している。



・ N. Soh, T. Ariyoshi, T. Fukaminato, K. Nakano, M. Irie, T. Imato, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(11), 2943-6

## 新製品

### 分子生物学用 Good's buffer

新たに分子生物学用グレードの HEPES, MOPS, PIPES を発売致しました。

ご希望の多い、Good's buffer 3種(HEPES, MOPS, PIPES)のエンドトキシン試験(HEPES, MOPSのみ:試験適合) DNase, RNase 試験(不検出)を行い、かつ純度が、HEPES, PIPES:99.7%以上、MOPS:99.5%以上の超高純度品となっております(従来品:99.0%以上)。

4月末まで発売記念キャンペーンを行っており、お求め安い価格としておりますので、是非この機会にお試し下さい。

<特長>

HEPES 分子生物学用

- ・純度(滴定): 99.7%以上
- ・DNase, RNase: 不検出
- ・エンドトキシン: 試験適合

MOPS 分子生物学用

- ・純度(滴定): 99.5%以上
- ・DNase, RNase: 不検出
- ・エンドトキシン: 試験適合

PIPES 分子生物学用

- ・純度(滴定): 99.7%以上
- ・DNase, RNase: 不検出

品名	容量	価格(¥)	コード	メーカーコード
HEPES 分子生物学用	100 g	9,600	344-08231	GB70
<b>キャンペーン価格</b>		<b>7,200</b>		
	500 g	34,400	346-08235	GB70
<b>キャンペーン価格</b>		<b>25,800</b>		
MOPS 分子生物学用	100 g	9,600	341-08241	GB71
<b>キャンペーン価格</b>		<b>7,200</b>		
	500 g	34,800	343-08245	GB71
<b>キャンペーン価格</b>		<b>26,000</b>		
PIPES 分子生物学用	100 g	9,400	348-08251	GB72
<b>キャンペーン価格</b>		<b>8,000</b>		
	500 g	34,000	340-08255	GB72
<b>キャンペーン価格</b>		<b>28,800</b>		

\* 分子生物学用 buffer としては、10 × MESA, 10 × TBE, 10 × TE, 20 × SSC, 20 × SSPE, 1 M Tris-HCl, 0.5 M EDTA もご用意しております。

### 関連商品

Good's buffer (一般規格品)

品名	容量	価格(¥)	コード	メーカーコード
ADA	25 g	3,400	346-04732	GB02
	100 g	8,200	348-04731	
ACES	25 g	8,000	347-04882	GB01
	100 g	24,600	349-04881	
BES	25 g	2,800	341-00262	GB03
	100 g	8,000	347-00264	
	500 g	31,600	345-00265	
Bicine	25 g	2,800	347-03282	GB04
	100 g	7,000	343-03284	
Bis-Tris	25 g	4,800	343-04742	GB05
	100 g	14,000	345-04741	
CAPS	25 g	4,000	347-00482	GB06
	100 g	10,800	343-00484	
CHES	25 g	3,800	342-04692	GB07
EPPS	25 g	5,800	348-03192	GB09
HEPES	25 g	2,400	348-01372	GB10
	100 g	6,400	346-01373	
	250 g	14,000	340-01371	
	500 g	23,000	342-01375	
	1 kg	44,200	340-01376	
HEPPSO	25 g	6,200	340-04132	GB11
MES	25 g	2,600	341-01622	GB12
	100 g	6,400	349-01623	
	250 g	14,000	343-01621	
	500 g	26,000	345-01625	
	1 kg	47,000	343-01626	
MOPS	25 g	2,800	349-01802	GB13
	100 g	6,400	345-01804	
	250 g	15,600	341-01801	
	500 g	24,000	343-01805	
	1 kg	43,000	341-01806	
MOPSO	25 g	3,800	341-04162	GB14
PIPES	25 g	3,200	341-02222	GB15
	100 g	7,800	347-02224	
	500 g	28,400	345-02225	
PIPES sesquisodium	25 g	3,800	340-08032	GB25
POPSO	25 g	5,200	344-04152	GB16
TAPS	25 g	3,200	344-02572	GB17
	100 g	9,400	340-02574	
TAPSO	25 g	4,800	348-04172	GB20
TES	25 g	5,200	346-02652	GB18
	100 g	12,800	344-02653	
	500 g	53,400	340-02655	
Tricine	25 g	2,800	341-02842	GB19
	100 g	7,800	347-02844	
HEPES buffer solution	100 ml	11,000	345-06681	GB60
MOPS buffer solution	100 ml	11,000	342-06691	GB61

ホームページアドレス

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

E-mail : [info@dojindo.co.jp](mailto:info@dojindo.co.jp)

フリーファックス 0120-021557

フリーダイヤル 0120-489548