

2008 No.
126

ISSN 0385-1516

CONTENTS

Review

感染症をめぐる宿主の
応答と微生物の戦略
中西 義信

連載

エイズから見た感染症研究の最前線
その6 感染細胞からのHIV-1の産生と
型インターフェロン
遊佐 敬介

Topics on Chemistry

2光子励起を利用した水溶性ユーロピウム
錯体のバイオイメーキングにおける応用
野口 克也

ドージンニュース

The logo for DOJIN NEWS features the word "DOJIN" in a blue, stylized font with a white outline, followed by "NEWS" in a similar blue font. A red hexagon is positioned above the letter "I" in "DOJIN".

目次

Review

- 感染症をめぐる宿主の応答と微生物の戦略
 金沢大学大学院医学系研究科 中西 義信 1
- エイズから見た感染症研究の最前線
 その6 感染細胞からのHIV-1の産生と 型インターフェロン
 熊本大学大学院医学薬学研究部 遊佐 敬介 6

Topics on Chemistry

- 2光子励起を利用した水溶性ユーロピウム錯体のバイオイメージングにおける応用
 同仁化学研究所 野口 克也 9

Commercial

- 新製品
 過酸化脂質蛍光検出試薬 11
- 開発中
 アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性測定キット 10
- Q & A
 残留塩素測定キット -SBT 法 12

お知らせ

- 販売中止品 13
- 26 版総合カタログ発行 14

製品案内

製品案内

製品詳細は掲載ページをご覧ください

過酸化脂質蛍光検出試薬

| 品名 | 容量 | 価格(¥) | メーカーコード |
|---------|------|--------|---------|
| Spy-LHP | 1 mg | 20,000 | S343 |

残留塩素測定キット

| 品名 | 容量 | 価格(¥) | メーカーコード |
|------------------|-------|-------|---------|
| 残留塩素測定キット -SBT 法 | 1 set | 7,000 | ZK01-50 |

残留塩素測定試薬 -SBT 法

| | | | |
|--|--------|-------|---------|
| | 100 回用 | 1,300 | ZK01-60 |
| | 500 回用 | 5,000 | ZK01-60 |

色素液

| | | | |
|--|--------|-------|---------|
| | 100 ml | 9,000 | ZK01-70 |
|--|--------|-------|---------|

検水調製液

| | | | |
|--|--------|-------|---------|
| | 200 ml | 5,000 | ZK01-80 |
|--|--------|-------|---------|



熊本県八代市氷川ダムの桜 (2007年4月撮影)
 “フリーデスクトップ壁紙・熊本ふるさと百景” 提供

感染症をめぐる宿主の応答と微生物の戦略



中西 義信
(Yoshinobu Nakanishi)
(金沢大学医学系研究科
生体防御応答学分野、薬学部兼任)

今回、2007年11月30日に開催いたしましたフォーラム・イン・ドージンには多くの方に盛況をいただきました。すばらしいご講演をいただきましたが、ご聴講いただけたのは一部の方のみになります。

そこで今回、金沢大学 中西義信先生に本テーマをまとめていただきましたので、皆様にご紹介させていただきます。

1. はじめに

表題と同じタイトルを掲げて、第18回フォーラム・イン・ドージンが2007年11月30日に熊本市で開催された。本フォーラムは株式会社同仁化学研究所の全面的な支援のもとに毎年行われており、今年は岩永貞昭氏(九州大学名誉教授)の発案を受けて、山本哲郎氏(熊本大学教授)が代表世話人、住本英樹氏(九州大学教授)と中西が当番世話人となって企画・実行された。本稿では、今回のフォーラムでのテーマについて、当日に討論された内容を中心として考察する。

2. 背景

私たち人類は、共存関係にある微生物の影響を陰に陽に受けている。陰の部分は感染症であり、食中毒や風邪のような“見慣れた”病気から、新興感染症や再興感染症に分類される“見慣れない”病気まで、さまざまな疾病が微生物の体内への侵入を原因として引き起こされる。私たちの体には感染症を防止するための生体機能が備わっており、深刻な感染症が発症することはまれである。しかし、感染した微生物の量が多かったり、毒性が強い微生物の侵入を受けると、死に至る事態が発生する場合がある。そうすると医療の力を借りることになるが、残念ながら多くの微生物については“特効薬”などの決定的な医療はまだ存在しない。

これまで開発されてきた抗感染症薬の多くは、抗生物質に代表される微生物側に働く化学療法剤である。しかし、そのような薬にさらされた微生物は、遺伝子発現様式や遺伝子構造そのものを変化させて、薬剤耐性を獲得する。これは「薬を使うほど耐性微生物が出現する」ことを意味し、抗感染症薬の賢い使い方が求められている。抗感染症薬の多くは、微生物の増殖や生存に必須な反応に関わる微生物固有のタンパク質の働きを阻害する。反応の種類や標的タンパク質がその反応の中でどの段階に関わるかによって、耐性微生物が出現しにくい場合のあることが知られる。これは、微生物側の新たな標的を見つければより有効な薬の開発につながる可能性があることを示す。一方、微生物側ではなく宿主の生体防御システムを標的とする抗感染症薬も存在する。既存のそのような薬は、微生物成分を含むものか、たまたま見つかった天然物由来の生理活性物質がほとんどである。抗感染症薬開発のためのもうひとつの努力は、標的を具体的に絞ってこのような Biological Response Modifiers (BRM) を探索することであろう。また、感染症の予防の面ではワクチンによる医療がある。しかし、形状がどのようであれワクチンには副作用が付きまとうし、微生物の中には頻りに抗原性を変化させて免疫を逃れるものが多

く存在する。いずれにせよ、感染症に対する有効な医療を開発するためには、宿主に侵入した微生物の巧妙な振る舞い及びより賢いはずの宿主が有する防御システムを詳しく知ることが必要である。

3. 知識の整理

3.1. 宿主の生体防御システム

私たちの体を感染症から守ってくれるのは免疫である。免疫は大きく自然免疫と獲得免疫のふたつのシステムから成り、それぞれに免疫細胞が活躍する細胞性反応と免疫関連タンパク質が主に働く液性反応が含まれる。侵入微生物を感知して最初に誘導されるのが自然免疫であり、その反応を介して活性化されるのが獲得免疫である。自然免疫では微生物個々ではなく特定集団の微生物(グラム陰性細菌など)が共通に持つ構造(パターン)が対応する受容体に認識されるのに対して、獲得免疫では個々の微生物に存在する特定分子の一部(抗原)がその受容体(抗体)に認識されて微生物の侵入が感知される。さらに、獲得免疫では同一抗原の再度の侵入に対しては迅速かつ強大な免疫応答が起こることが知られる。しかし、自然免疫と獲得免疫との間のこのような違いは少々怪しくなりつつある(後述)。獲得免疫による応答は、同一抗原を有する微生物の二度目以降の侵入の際に有効であり、実質的には最初の侵入時ではそのための準備を整える意味しか持たない。したがって、宿主が初めて遭遇する抗原だけを持つ病原性微生物が体内に入ってきた時には、自然免疫がしっかり働いてくれないと病気になる。

呼吸器官または消化器官に入った微生物は、その場に存在する免疫細胞や抗微生物物質の働きにより、多くの場合は除去される。しかし何らかの理由でその防御を逃れた微生物の一部は、上皮細胞のバリアを破って体内に侵入して血液に入り込む。そうすると、血液中の免疫細胞がそれら微生物を感知して宿主の防御反応が誘導される。これは、免疫細胞が特殊なタンパク質を使って微生物物質を認識することで起こる。最初に働く自然免疫では、抗微生物物質の生産、補体の活性化、そして微生物の貪食除去などの反応が起こる。自然免疫反応は同時に獲得免疫の活性化を導き、侵入した微生物の抗原に対する特異的な抗体を生産できるように、リンパ球に質的及び量的な変化を促す。具体的には、樹状細胞を代表とする免疫細胞が何らかの経路で微生物物質を獲得し、そこに含まれる抗原となる構造物をTリンパ球に提示する。微生物物質の刺激を受けたTリンパ球は、それ自体が微生物殺傷機能を獲得したり、他のリンパ球を刺激するタンパク質を放出したりする。

この後者の反応は、Bリンパ球による特定抗体の生産準備を促すと同時に増殖を活発化させる。これが、同一微生物の再度の侵入に備えた準備である。同じ抗原を持つ微生物が再度侵入してきたら、変化したBリンパ球が刺激されて強力な抗体が速やかにかつ大量に作られ、侵入微生物が除去される。

3.2. 微生物の抵抗と宿主の対抗

微生物は宿主の防御反応を回避して、私たちの体内で何とか生き延びようとする。ある種の細菌は、自分の表面構造を変化させて免疫細胞による感知を逃れる術を持つ。またあるものは、たとえ感知されても免疫細胞内での防御反応誘導経路を阻害することができる。微生物が免疫細胞に貪食されることは宿主の防御機構のひとつであるが、細菌の中には自ら免疫細胞の中に入り込もうとするものもある。しかも、通常は起こる殺菌や消化を逃れて、免疫細胞内で生存を続けるのである。細菌はこのようにして、補体、リンパ球及び抗体の攻撃から逃れることができる。さらには、獲得免疫誘導のための抗原提示を阻害する微生物も存在する。

このような微生物の抵抗に対して宿主側も黙ってはいない。免疫細胞に自ら入り込んで生存を続ける細菌を、通常とは違うやり方で殺傷する仕組みがある。それはオートファジーと呼ばれ、細胞内の細菌が膜で包まれて分解されてしまう反応である。もうひとつの宿主の逆襲はアポトーシスの誘導である。一般に、アポトーシス細胞は貪食によって除去される。微生物の入り込んだ細胞がアポトーシスを起こすと、貪食されて宿主細胞もろとも微生物が消化されてしまう。これは、“身を切らせて骨を切る”宿主の戦法と言える。

4. 2007年フォーラムの内容

侵入微生物に対する宿主の免疫応答機構は、先に述べたように大まかな部分はほぼ判明していると言ってよい。ただし、“微生物感染でなぜ病気になるか”はまだよく分かっておらず、より詳細な機構の解明、特に免疫誘導と病原性発揮にかかわる微生物側及び宿主側の因子を同定することが必要である。それを達成することにより、感染症発症の仕組みが明らかになるとともに、より有効なワクチンや抗感染薬の開発が可能になると思われる。本フォーラムでの講演のすべてが、それにつながる可能性を与えてくれる研究成果を発表するものであった。

4.1. 免疫応答機構の研究

侵入微生物を感知する仕組みには、変化を増大させてより効果的な応答を起こすためのトリックが隠されていることが明らかにされた。この結果は、韓国釜山国立大学薬学部の李福律(Bok Luel Lee)氏による昆虫を用いた研究により示された。ショウジョウバエを使った研究で明らかにされた昆虫の免疫応答システムは微生物の種類により使い分けられる2つの経路から成り、そのうちの少なくとも1経路では体液(血液に相当)中に存在するタンパク質の働きが必要であることが分かっていた。李氏の研究グループは、幼虫の体液からその経路を構成するタンパク質群を精製し、それらを使って微生物表面物質から免疫細胞受容体につながる経路を無細胞反応系で再現させることに成功した。新しく見出された2種のタンパク質はいずれもタンパク質分解酵素であり、この経路での主反応はタンパク質部分分解の連続反応であることが示され

た。タンパク質分解酵素の連続した活性化によって、微生物物質の感知という情報が体液中で増幅されるわけである。最後に活性化された酵素が体液中に存在する特定の宿主タンパク質を部分分解すると、その産物がリガンドとなって免疫細胞の受容体に結合して免疫反応を引き起こす。このように、昆虫での2つの免疫応答経路のうちのひとつが完全に明らかになったわけである。哺乳類では、補体活性化、血液凝固及びアポトーシスという3つの現象の誘導経路がタンパク質部分分解の連続反応で構成されていることが知られる。哺乳類でもこのプロテアーゼカスケードが侵入微生物の感知に使われているかどうか、今後の解析が待たれる。

獲得免疫ではリンパ球が重要な役割を演じる。リンパ球の働き方については、表層に存在する種々の受容体の解析は進められているものの、それ以外の分子の同定と機能解明は遅れている。九州大学生体防御医学研究所の福井宣規氏は、リンパ球での細胞骨格構造を制御する新しい分子を見出してその役割を調べた。細胞の動きや形態変化には細胞骨格の再編成が必要であり、それにはある種の低分子量Gタンパク質の働きが必要であることが知られる。Gタンパク質の活性化はそこに結合するグアニンヌクレオチドがGDPからGTPに置き換わることで行われ、グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)と呼ばれるタンパク質がその反応を規定する。福井氏はリンパ球が移動する際に働くGEFがDOCK2という分子であることをつきとめた。DOCK2が作られないようにしたリンパ球は、体内での免疫応答のための移動速度ばかりか、抗原を認識する機能も低下することが分かった。後者は、細胞骨格構造変化が妨げられて抗原認識に必要な分子の細胞表層への移行が滞ったためと推測された。さらに、DOCK2を持たないマウスでは、免疫機能が低下したために起こるさまざまな不具合が生じていた。別の白血球である好中球は、哺乳類において侵入微生物を貪食除去する主役である。好中球は微生物侵入を感知した免疫細胞からの情報を得て、リンパ球の場合と同様の原理で侵入場所に移動する。細胞骨格の構造変化を導く低分子量Gタンパク質の働きには、ある種のホスホイノシタイドが必要である。ホスホイノシタイドは、リン酸化の場所の違いによって異なる反応を引き起こす情報伝達物質である。そのリン酸化を規定する酵素のうち、ホスホイノシタイド3-キナーゼ(PI3K)は4位と5位がリン酸化されたホスホイノシタイドのさらに3位をリン酸化する酵素である。好中球は4種のPI3Kアイソザイムを有しており、それらの使い分けはまだよく分かっていなかった。佐々木雄彦氏(秋田大学医学部)はノックアウトマウスを解析することにより、PI3Kと呼ばれるアイソザイムが好中球の微生物侵入部位への移動に必要であることを明らかにした。好中球による免疫反応は微生物除去には必要であるが、それによって起こる炎症は人体に傷害を与える。本研究成果は、PI3Kが新しい抗炎症薬を開発する際の標的分子となりうることを示す。

侵入場所にやってきた好中球の貪食作用により、微生物は貪食胞として好中球内部に取り込まれる。すると、貪食胞内部に活性酸素が生産されて微生物は殺される。この活性酸素生産を規定するのがNADPHオキシダーゼと呼ばれる酵素である。この酵素は多数のサブユニットから成り、微生物を含んだ貪食胞が形成されると、その膜内でサブユニットが集合して酵素活性を発揮する複

合体が作られる。このサブユニット集合の仕組みはまだよく分かっておらず、住本英樹氏（九州大学生体防御医学研究所）はその研究に取り組んでいる。本講演では、微生物貪食をきっかけとして活性化されたp47サブユニットの働きで他のサブユニットが集合する仕組みに関する研究成果が報告された。微生物の中には、免疫細胞内でNADPHオキシダーゼ複合体の形成を妨げて活性酸素による殺傷を逃れるものが知られる。住本氏の研究はその仕組みの解明につながると期待される。

4.2. 病原性発揮機構の研究

感染症の原因は“病原性”を有する微生物が体内に侵入することであるのは明かだが、それがどのようにして発症につながるかはよく分かっていない。破傷風菌やボツリヌス菌など明らかな毒素を持つ微生物によるものを除くと、感染症での病態は宿主の免疫が過剰になった結果だとする考え方がある（後述）。この問題への答を得るためには、微生物を感染させた動物での免疫反応の程度と病態の進行度を調べる実験が必要である。帯広畜産大学原虫病研究センターの嘉糠洋陸氏は、遺伝学が活用できる昆虫を用いてそのような研究を行っている。嘉糠氏は、さまざまな種類のショウジョウバエに微生物を感染させ、抗微生物物質の生産と致死性の程度を比較した。その結果、ハエの種類によって免疫応答の程度と死ぬまでの時間が異なり、長く生きるハエでは免疫応答が早く起こることが分かった。また、1種類のハエの中でさまざまな遺伝子の発現を人為的に高め、それらに微生物を感染させて発症の程度を調べる実験も行われつつある。嘉糠氏はショウジョウバエのすべての遺伝子について感染抵抗性への関与の有無を調べることがめざしており、その研究の完了はそれほど遠くではなさそうである。既に、抵抗性を高める遺伝子と低める遺伝子とも10以上が見つかっており、それら遺伝子がコードするタンパク質の機能解析が待たれる。

感染症発症に関わる微生物側の因子についてもまだよく分かっていない。遺伝学を利用して微生物側の病原性因子を同定する試みもなされている。黒川健児氏（東京大学薬学部）は、黄色ブドウ球菌に無差別に突然変異を起こさせて、まず高温で増殖程度が変化する1000株ほどの菌を選んだ。次に、それらをカイコに感染させて病原性の程度を調べた。黒川氏の研究グループは、カイコを使うことにより、これまでの寒天培地上での微生物の増殖のみに頼った抗生物質の探索法からの脱却をはかっている。調べた変異菌の中には感染時のカイコの致死性が親株菌の場合と大きく異なるものが含まれており、変異遺伝子が病原性因子に関連するタンパク質をコードする可能性がある。今後の詳しい解析が期待される。

4.3. 微生物側の戦略の研究

微生物が自己の生存のために宿主の免疫を逃れたり、またその逆に利用する例が知られる。金沢大学医学系研究科の白土明子氏の研究グループは、細菌が免疫細胞の微生物感知受容体を使って殺傷を逃れることを見出した。黄色ブドウ球菌を貪食したマクロファージでは、自然免疫受容体のひとつのTLR2に依存して活性酸素生産が低下した。これは、黄色ブドウ球菌がTLR2を介してMAPキナーゼのひとつであるJNKを活性化するためであることが分かり、微生物が宿主免疫応答を利用する新たな例となった。活

性酸素減少は黄色ブドウ球菌の生存に有利だと思われるが、見方を変えると、宿主にとっても傷害を与える物質の生産を最小量に抑えるためであるとも解釈することができる。白土氏は先に紹介した黒川氏の樹立した変異菌を使ってTLR2に働きかける細菌側因子の同定に取り組んでおり、この研究が黄色ブドウ球菌感染での疾患発症の仕組みを解明することにつながる可能性がある。

マラリア原虫の感染で引き起こされる感染症は、毎年数百万人の人命を奪うたいへん深刻な疾患である。近年になって、マラリア原虫とともにその媒介昆虫であるハマダラカのゲノム構造が解明され、それに基づいて世界規模で新しい医療の開発が試みられている。鎮西康雄氏（三重大学医学部）はマラリア原虫と宿主との関係を規定する原虫側遺伝子の同定を行っている。遺伝子を変異させたマラリア原虫を使った研究が先駆的に行われており、本講演では宿主寄生性に必要な遺伝子の解析について発表した。蚊の吸血で宿主血液中に侵入したマラリア原虫は、肝臓にたどり着いて細胞内に入り込む。鎮西氏は、マラリア原虫の肝臓細胞への侵入と細胞内に留まる機構を調べ、それらの現象に必要な原虫遺伝子を見出した。増殖と分化を果たしたマラリア原虫は肝臓細胞を出て、今度は赤血球に入り込んで生殖性を獲得する変化を起こす。その後赤血球を破壊して外に出ることがマラリア発症の実体であり、これまでマラリア原虫の肝臓での振る舞いはあまり調べられて来なかった。鎮西氏の研究で新たに同定された原虫遺伝子が標的となって、新しい抗マラリア薬が開発されることが期待される。

5. 感染症研究の今後の展開

感染症は体内に侵入した微生物の増殖に伴って発症するため、原因が明白で単純な疾患だと思われがちである。しかし、もう少し考えを進めると、根本的な部分がかかっていないことに気が付く。そして、感染症を予防・治療するための医療の開発が一筋縄ではないことが見えてくる。先に述べたように、侵入微生物の振るまいと免疫応答の詳しい解析が必要であることは確かだが、人類が感染症の危機から逃れるためには少々目先を変えた研究も必要であろう。

5.1. 感染症発症の仕組み

体内で微生物が増えたらなぜ病気になるのだろうか。自分の生存と増殖に都合がよいので、微生物は私たちの体内に侵入するはずである。そうすると微生物は、私たちが病気になって具合を悪くして死んでしまうと困る。おそらく、微生物は積極的には私たちに病気を起こそうとはしていないであろう。毒素を放出したりしない限り、微生物の存在自体が私たちにとって大きな害になるとは考えにくい。グラム陰性菌が表層に持つリポ多糖は“内毒素”として知られ、それだけを動物に投与しても量によって致死的となる。しかし、リポ多糖は一般的な毒物としての性質を有しておらず、宿主細胞の受容体に結合して免疫を誘導する細菌側の因子として知られる。これらの事実より、宿主の免疫応答がリポ多糖の“毒性”として表れているという解釈が可能である。これが正しければ、免疫反応は必ずしも宿主のプラスになるとは限らないことになる。そして、感染症の予防・治療には宿主の免疫を抑えることが必要だという所まで行き着く。さりとて、免疫をなくし

てしまうと感染症の危険性が高まることは、後天性免疫不全症候群の患者を見れば明らかである。微生物の直接効果では説明できない感染症は宿主の過剰な免疫応答が原因となるという考え方は以前より有り、未だに議論の中にある。この考えをもう少し進めて、微生物感染に対する宿主側の防御システムを“微生物の除去”と“宿主の耐性”に分けて考えるべきだという主張がなされている。言うまでもなく、前者の役割を担うのが免疫である。侵入微生物を感知した免疫細胞は、それを除去するためにさまざまな反応を起こす。免疫反応は微生物を殺傷したり増殖阻害したりするために起こるが、同時に発熱や痛みを含めた不具合を宿主に生じさせる。その時に体を守ってくれるのが“宿主の耐性”機構である。こうして、侵入微生物の除去に十分な程度の免疫反応に体が耐え得れば感染症は防止されて健康が保たれる。しかし、耐性機構が不十分だと免疫反応の「副作用」に体が負け、不具合の症状が悪化して死に至ることもある。実際に、昆虫のショウジョウバエを使った研究では、“過剰な”免疫反応を抑制する仕組みを阻害すると、感染した微生物はあつという間に除去されるがほぼ同時に宿主が死んでしまう、という実験結果が報告されている。これは、“微生物の除去”と“宿主の耐性”を担う防御機構が別々に存在することを示唆する。これまでこのような視点から感染症が研究されることはほとんどなく、宿主の耐性を決める仕組みの一切は不明である。宿主耐性に関わる遺伝子の存在は容易に推察でき、それらの同定が最初の課題となろう。それには遺伝学的な解析が有利であり、嘉糠氏が行っているショウジョウバエの感染免疫関連遺伝子の網羅的解析により目的の遺伝子が見つかるかもしれない。

5.2. 自然免疫と獲得免疫との関係

自然免疫の定義は、“個体の出生後に再編成される遺伝子の働きを介さない免疫”である。再編成を受ける遺伝子は抗体や一部のリンパ球受容体をコードするものであり、免疫に“抗原に対する一対一認識”を賦与する役割を担う、と考えられている。この一対一認識が免疫学的記憶と合わせて、自然免疫には含まれない獲得免疫の特徴とされる。しかし、この考えでは説明できない事象が判明して、自然免疫と獲得免疫との関係を見直さなければならないかもしれない。

昆虫などが持つ「原始的な」免疫が精力的に研究され、私たち哺乳類にもそれと類似の免疫が備わっていることが確定し、自然免疫から原始的なという形容詞が外されて上記の定義が与えられた。そうすると、ショウジョウバエなどの昆虫は、“一対一認識”や“免疫記憶”を用いることなく侵入微生物と戦っていることになる。実際に、遺伝子再編成を受ける遺伝子と類似なものは昆虫には存在しない。しかし、自然免疫しか持たないはずの昆虫を含めたいくつかの生物において、“二度目に遭遇する微生物に対してはより高い耐性を示す”という実験結果が以前より報告されている。さらに最近になって、異なるスプライシングによって数万種類のタンパク質を生み出す遺伝子の存在が報告され、それらが免疫に関連した機能を持つことが示唆されている。これらの研究成果は、遺伝子再編成を伴わずに作られる“抗体類似”分子により自然免疫に一対一認識と免疫記憶の性質が与えられていることを想像させる。このように、免疫に関してこれまでの定義や理解で

は説明できない生命現象が分かってきて、免疫に対する考え方のものを変える必要があるのかもしれない。

5.3. 病原性微生物と共生微生物

私たちの皮膚や粘膜にはさまざまな種類の微生物が住みついており、それらは常在微生物叢と呼ばれる。常在微生物叢は、出生の際に母親の産道や環境中にいる微生物が新生児に感染して形成される。これらの微生物と私たちとはギブ&テイクの関係を形成して共生しており、微生物側は私たちに感染抵抗性を与えることが分かっている。化学療法剤の過度な使用は、薬剤耐性微生物の出現のみならず、常在微生物叢の消失という弊害も伴うのである。常在微生物叢について今後解析すべきことは、それらの微生物がどうやって宿主免疫から逃れて存在しているのか、そして叢を構成する微生物の種類の把握、の2点であろう。

常在性微生物も侵入微生物と同じく感染症を起こすことがある。それは宿主の免疫機能が低下した時であり、日和見感染と呼ばれる。日和見感染症の多くはすぐに治ってしまう場合が多く、常在性微生物に対しても免疫が働くことが分かる。つまり、常在性微生物は病原性を有しているとともに「異物」として宿主免疫に感知され、侵入微生物との間に大きな差はなさそうである。微生物の中にはさまざまなやり方で免疫を逃れるものがあるが、常在微生物叢を構成する微生物は積極的に免疫を逃れようとはしていないのかもしれない。ウイルスなどの慢性感染のように、体内で増えて一定量に達すると免疫に感知されて量が減ることをくり返しているのだろうか。それにしても、常在微生物叢を構成する微生物は常に多く存在するように思われる。常在微生物が体内に存在し続ける仕組みを明らかにすることは、感染症の理解を深め、新しい原理に基づく感染症防止法の開発につながると期待される。

常在微生物叢を構成する微生物の同定はまったく行われていないのに等しい。それは、それらの微生物の大半は培養できないからである。歯周病細菌の半分程度、そして腸内細菌の9割以上が難培養性だと考えられている。つまり、それらの常在微生物叢を寒天培地に塗布しても、現れてくるコロニーは叢に存在する微生物のごく一部だけに由来するという訳である。さらに、環境中の微生物の99%程度が培養不能らしく、私たちを取り巻く微生物の大半はまだ人類の目に触れていないことになる。ある意味では、このような状況で「感染症を理解して対策を講じよう」とすることは無謀である。そこで、未知な微生物を同定し、種類を定めて分類しようとする試みが行われつつある。従来の“培養で増やして調べる”やり方は通用しないので、微生物の遺伝子から攻める方法がとられ、“メタゲノム”と呼ばれている。私たち人類だけでなく植物や昆虫に常在している微生物、通常的环境中に住む微生物、そして極限的环境中にいる微生物がこのような研究の対象とされている。どんなものが見つかるか、好奇心をもくすぐるプロジェクトが進行中である。

5.4. 微生物による免疫の回避と利用

前述したように、微生物はさまざまな手段を講じて宿主の免疫から逃れようとする。微生物としても、宿主体内に侵入してせつかく増殖できる環境を得たので、簡単には死ぬ訳にはゆかないと抵抗するのである。微生物が免疫を回避する仕組みの解明は日進月歩で行われつつある。このような微生物の振る舞いに対して宿

主も逆襲する訳であり、ちょうど人類が開発した抗生物質への抵抗性を微生物が獲得する経緯に似ている。そうすると、微生物と宿主とは生存をかけて、太古の昔からそれぞれの武器を改良する進化を続けてきたと推測される。宿主の免疫機構、微生物の抵抗手段、そして宿主の逆襲、これらを担う遺伝子について進化の見地から解析を加えると、これまでとは異なる原理に基づいた感染症対策のアイデアが見えてくるかもしれない。

筆者紹介

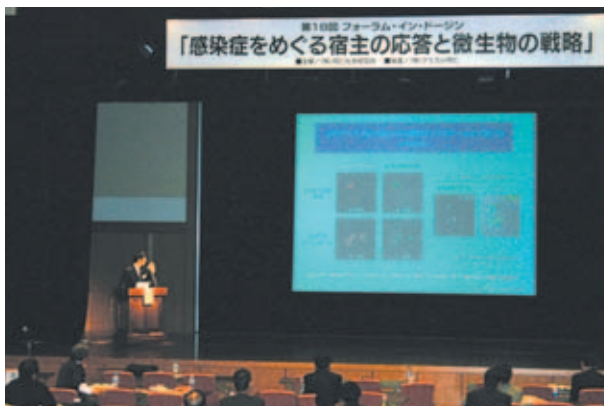
氏名：中西 義信

所属：金沢大学，大学院医学系研究科（薬学部兼任）教授

住所：石川県金沢市角間町

研究テーマ：アポトーシス細胞貪食の分子機構

細胞貪食による感染防御機構



要旨集の残部がございますので、ご希望の方は小社までご連絡下さい。

講演内容に関する参考文献

李氏の講演：

Park J.W., Kim C.H., Kim J.H., Je B.R., Roh K.B., Kim S.J., Lee H.H., Ryu J.H., Lim J.H., Oh B.H., Lee W.J., Ha N.C., and Lee B.L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2007**, *104*, 6602–6607.

Kim C.-H., Kim S.-J., Kan H., Kwon H.-M., Roh K.-B., Jiang R., Yang Y., Park J.-W., Lee H.-H., Ha N.-C., Kang H.J., Nonaka M., Söderhäll K., and Lee B.L., *J. Biol. Chem.*, **2008**, *in press*.

福井氏の講演：

Tanaka Y., Hamano S., Gotoh K., Murata Y., Kunisaki Y., Nishikimi A., Takii R., Kawaguchi M., Inayoshi A., Masuko S., Himeno K., Sasazuki T., and Fukui Y., *Nat. Immunol.*, **2007**, *8*, 1067–1075.

佐々木氏の講演：

Nishio M., Watanabe K., Sasaki J., Taya C., Takasuga S., Iizuka R., Balla T., Yamazaki M., Watanabe H., Itoh R., Kuroda S., Horie Y., Förster I., Mak T.W., Yonekawa H., Penninger J.M., Kanaho Y., Suzuki A., and Sasaki T., *Nat. Cell Biol.*, **2007**, *9*, 36–44.

Ferguson G.H., Milne L., Kulkarni S., Sasaki T., Walker S., Andrews S., Crabbe T., Finan P., Jones G., Jackson S., Camps M., Rommel C., Wymann M., Hirsh E., Hawkins P., and Stephens L., *Nat. Cell Biol.*, **2007**, *9*, 86–91.

住本氏の講演：

Nobuhisa I., Takeya R., Ogura K., Ueno N., Kohda D., Inagaki F., and Sumimoto H., *Biochem. J.*, **2006**, *396*, 183–192.

Ogura K., Nobuhisa I., Yuzawa S., Takeya R., Torikai S., Saikawa K., Sumimoto H., and Inagaki F., *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281*, 3660–3668.

嘉糠氏の講演：講演内容はすべて未発表

黒川氏の講演：黄色ブドウ球菌の遺伝子解析については未発表

Kurokawa K., Kaito C., and Sekimizu K., *Methods Enzymol.* **2007**, *422*, 233–244.

白土氏の講演：黄色ブドウ球菌の遺伝子解析については未発表

Watanabe I., Ichiki M., Shiratsuchi A., and Nakanishi Y., *J. Immunol.*, **2007**, *178*, 4917–4925.

鎮西氏の講演：

Ishino T., Yano K., Chnzei Y., and Yuda M., *PLoS Biol.*, **2004**, *2*, e4.

エイズから見た 感染症研究の最前線

その6 感染細胞からの HIV-1 の 産生と 型インターフェロン

熊本大学大学院医学薬学部研究部感染防御学分野 遊佐敬介

1. 型インターフェロン防御システムとウイルス感染

われわれの細胞にあるウイルスに対する代表的な防御システムとして 型インターフェロンがある。この防御システムは長い進化の歴史を通じて、ウイルスと丁々発止の戦いを繰り返してきた。

型インターフェロンによって誘導される抗ウイルス作用は多様に富んでいる。分泌された 型インターフェロンは、細胞膜表面のレセプターに結合し、シグナルが細胞内に送り込まれる。これによって惹起される抗ウイルス作用のなかでよく知られているもののひとつは、リン酸化酵素 PKR の転写量が上がり、感染したウイルスの二本鎖 RNA が PKR を活性化するというイベントだ。活性化された PKR は、翻訳開始に重要な因子である eIF α をリン酸化することで細胞の翻訳もともウイルスタンパク質の翻訳も抑制してしまう。もうひとつの作用は、2-5A 合成酵素を活性化し、(2'-5')オリゴアデニル酸が合成され、これが RNase L を活性化し、ウイルスの RNA も分解してしまうことだ。感染細胞内の RNA は分解され、翻訳の活性も低下するので、細胞は、一種の耐乏生活に入る。当然ウイルスも複製できなくなる。生命活動を低下させて、侵入者に対処するというのが 型インターフェロンによる代表的な防御戦略だ。ところが、すでにこうした戦略に対するカウンター兵器を多くのウイルスがもっていることが知られている¹⁾。たとえば、インフルエンザが感染すると宿主のタンパク質 p58 が hsp40 から解離し、PKR に結合して、その活性を抑制するし、アデノウイルスでは、ウイルスの転写産物である VA RNA が PKR を阻害するばかりでなく、ウイルスタンパク質である E1A が ISGF3 をはじめとするインターフェロンによって誘導される遺伝子の転写を抑制する。このほかにもヘルペスウイルス、肝炎ウイルス(HBV)、ポリオウイルス、レオウイルスなど、型インターフェロンの防御システムを攻撃するウイルスは多い。逆にいえば、それだけ 型インターフェロンによる対ウイルス迎撃システムはよく出来ており、ヒトとウイルスの進化における攻防において、一時はウイルスを有効に押さえ込んでいたために、ウイルスはそれに対抗せざるを得なかったのだということが出来る。

2. レトロウイルスとヒトの攻防

それではエイズを発症するヒトの代表的なレトロウイルス HIV-1 についてはどうであろうか。ヒトとレトロウイルスの攻防にもやはり長い歴史がある。その証拠に、内性レトロウイルスといういわばかつてヒトが感染したウイルスの残骸がヒトのゲノムにみられることやヒト T 細胞白血病ウイルスが、キャリアの体内に潜んで、ヒト成人 T 細胞白血病(ATL)や神経系疾患(HAM/TSP)

などを発症させる例などをあげることができる。ヒトの内性レトロウイルス HERV-W のエンベロープタンパク質はいまではヒトの胎盤形成時、生理機能をもった分子として働いていることがわかっている²⁾。これは、かつてヒトの敵であったウイルスのタンパク質がいまでは宿主側に飼いならされているという驚きの例である。またサルや類人猿との接触があるアフリカでは、日常的にハンターを中心にサルや類人猿のレトロウイルスが広がっていることが最近わかってきた³⁾。その多くは直接なんらかの疾患に結びつくことはないにしても、エイズウイルスの起源が類人猿を宿主としていたレトロウイルスの一種からきたのもであったことを考えると、こうした状況は将来エイズに匹敵するあらたな感染症の出現につながる可能性を否定できない。

宿主がもっているウイルスに対する代表的な防御システムである 型インターフェロンは HIV-1 に無力なのだろうか。それとも、HIV-1 は、すでに 型インターフェロンという防御システムに対する備え、つまり防御システムを無力化する武器を持っているので、ウイルスの感染増殖を防げないのだろうか。前述のようにレトロウイルスはヒトとともに接触感染を繰り返しながら進化してきた。HIV-1 はすでに 型インターフェロン防御システムを無力化する武器を持っていると考えるほうが自然かもしれない。従って、かつてこのシステムがレトロウイルスに有効であった防御効果をみるためには、まず武装解除した HIV-1 を人工的に作り、型インターフェロンの影響を調べる必要がある。その実験によってはじめて 型インターフェロンがもともと持っているレトロウイルス防御システムの実態と、それを無力化したウイルスの進化、両者の攻防の歴史を遡ることが出来る。その歴史をたどる前に、HIV-1 が感染細胞からどのようにして産生されるのかをみていこう。

3. 感染細胞からの HIV-1 粒子の産生

HIV-1 のウイルス粒子産生は次のようにして起きる。自分のタンパク質、自分の遺伝情報の書かれた RNA を合成し、それを細胞膜に直下に輸送し、ウイルス粒子形成を行う。この過程の詳細は近年ようやく明らかになってきた。その過程は細胞がもっている小胞形成のシステムを借用することによって起きる⁴⁾。じつはこの小胞形成システムは、細胞膜上のタンパク質を分解する一連の過程の一部なのだ。細胞膜上のタンパク質は、エンドサイトーシスによって、細胞内に引き込まれ、初期エンドソームに取り込まれる。やがてその細胞小器官の中に分解されるべき膜タンパク質をのせた小胞が放出される。これを電子顕微鏡でみると、ウイルス並みにちいさな小胞がエンドソームのなかに多くみられる。これを MVB (multivesicular body) と呼んでいる。こののち MVB はタンパク質分解酵素を含む小胞と融合し、MVB 中に放出された小胞にのっている膜タンパク質は分解されていく。MBV 内への小胞の放出は、MBV の膜の外側に小胞形を成する装置が集まって起きる。この小胞形成システムに参加するタンパク質は少なくとも 100 種類くらいあり、ESCRT-I, ESCRT-II, ESCRT-III とよばれる 3 つのタンパク質複合体を形成している。HIV-1 の細胞からの産生はこの装置をまるごと利用するのである。ウイルスタンパク質 Gag が、細胞膜直下にこれら MVB 小胞形成装置を呼び寄せて、

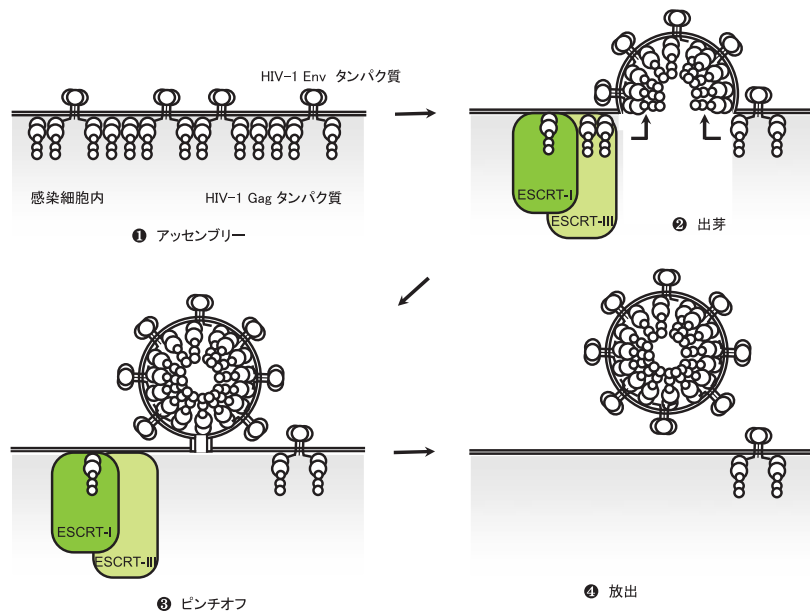


Fig.1 HIV-1の感染細胞からの産生過程

MVBの中へではなく、細胞膜から外に、ウイルス粒子を放出するのだ。このときウイルスは、細胞外に小胞形成を行わせつつ、自分の遺伝子とウイルス粒子形成に必要な自分自身のタンパク質をすばやく小胞に送り込むのである。

この過程は、

ウイルスタンパク質が細胞膜のある場所にあつまるところ（アッセンブリー）

ウイルスタンパク質のGagが小胞形成装置であるタンパク質複合体ESCRT-I, ESCRT-IIIを呼び寄せ、ウイルスタンパク質は、自身のエンベロープタンパク質の載った細胞膜を被って小胞となって突出していく（出芽）

粒子形成後、細胞膜と繋がっている膜がくびれ、引き絞られてちぎれる（ピンチオフ）

ウイルス粒子が細胞外に放出される（放出）

という4つにわけて考えることができる（Fig.1）。HIV-1感染マクロファージでは、いったんMVB内に出芽・放出されてからそのMVBが、細胞膜と融合する形で、MVB内のウイルスを細胞外に送り出すのではないかといわれてきたが、最近の報告では、マクロファージも細胞表面から直接ウイルスが産生されるものと考えられている。

4. 型インターフェロンとHIV-1産生

以前からインターフェロン α がHIV-1の出芽の阻害に効果があるといわれてきた。しかしその実態はよくわかっていなかった。それはHIV-1が、型インターフェロン防御システム無力化装置であるVpuタンパク質をもっていたからである。最近、HIV-1がコードしているvpuという遺伝子を欠損したHIV-1を使って、インターフェロン α の効果が調べられた⁵⁾。その結果、vpu遺伝子をもたないウイルスはインターフェロン α を細胞に作用させると、

複製できなくなることがわかった。それに対してvpuをもつ本来のHIV-1は型インターフェロン α による複製抑制効果はみられなかった。インターフェロン α を作用させた感染細胞の表面を電子顕微鏡で見ると、驚くべきことにウイルス産生が抑制されている細胞表面だけに、ぶどうの房のように成熟したウイルス粒子がお互にくっついたり、細胞表面に吸着した像がみられた。つまり、通常～の過程をたどって細胞外でウイルス粒子形成がおきたものの、インターフェロン α の作用によって誘導された細胞の変化の結果、完成したウイルス同士お互い凝集してしまい、細胞表面に固定され、ウイルス粒子が放出されるという、4番目の過程がスムーズに行われなくなることがわかったのである。しかもこのウイルス粒子の凝集はタンパク質分解酵素で解消される。この結果から、インターフェロン α によって（おそらく）誘導された膜タンパク質Xが、ウイルスのエンベロープに取り込まれ、ウイルスエンベロープ表面、細胞表面上のそのX分子同士が結合しあって、産生ウイルスのスムーズな放出を妨げているものと推定された（Fig.2）。ウイルス粒子のエンベロープ表面には、様々な細胞由来のタンパク質が取り込まれることがわかっているが⁶⁾、インターフェロン α に誘導される分子Xもアンカーのように細胞やウイルス同士をつなぎ止める接着分子のような機能を果たしているものと考えられる。この分子はテセリン（Tetherin:「つなぎとめるもの」の意味）と名付けられているが、その同定が待たれるところである。

このようにじつは型インターフェロンは立派にその役割（抗ウイルス効果）をはたしているわけなのだが、HIV-1側は、すでにそんなことは先刻承知とばかりに、平気な顔をして増え続けていたのは、すでに型インターフェロンによる防御システムを打ち破る兵器（Vpu）をもっていたからということになる。Vpuタンパク質がどのようにして型インターフェロンの抗ウイルス作

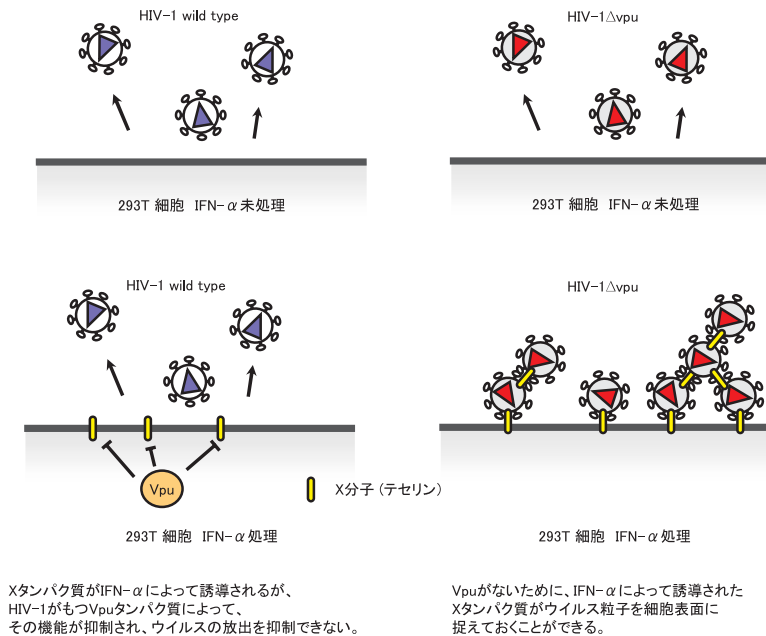


Fig.2 インターフェロンαによるVpu欠損HIV-1粒子放出の阻害

用を無力化しているかはまだはっきりしていないが、テセリンを分解系に誘導したり、ウイルスエンベロープへのテセリン分子の取り込みを阻害している可能性が考えられる。ウイルスと宿主は進化とともに終わりのない軍備競争をしているということもできる。

5. おわりに

HIV-1 発見当初、このウイルスは断然優勢で、ヒトの免疫システムや型インターフェロンなどの防御システムをかいくぐって我が世の春を謳歌している一人勝ちの様相を呈していたわけだが、宿主を殺してしまうことはHIV-1にとっても必ずしも得ではない。進化的に見ると、いずれ宿主と穏やかなかたちで折り合っていくものと考えられる。それにはいかに変異を起こしやすいレトロウイルスといえども長い時間がかかる。ここ数十年の化学療法の進歩によって強力な抗ウイルス剤が開発され、ウイルスの封じ込めが成功し始めたのは、HIV-1にとって大きな誤算かもしれない。

参考文献

- (1) Griffin, " DE Cytokines in viral infection ", *Semin. Virol.*, **1994**, 5, 403-463.
- (2) Wolfe, ND, *et al.*, " Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters ", *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2005**, 102, 7994-7999.
- (3) Mi, S, *et al.*, " Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis ", *Nature*, **2005**, 407, 785-489
- (4) Neil, SJ, *et al.*, " An interferon-alpha-induced tethering mechanism inhibits HIV-1 and Ebola virus particle release but is counteracted by the HIV-1 Vpu protein ", *Cell & Host Microbe.*, **2007**, 2, 193-203.

(5) Neil, SJ, *et al.*, " HIV-1 Vpu promotes release and prevents endocytosis of nascent retrovirus particles from the plasma membrane ", *PLoS Pathog.*, **2006**, 2, e39.

(6) Monde, K, *et al.*, " Gp120 V3-dependent impairment of R5 HIV-1 infectivity due to virion-incorporated CCR5 ", *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282, 36923-36932.



著者プロフィール

氏名：遊佐 敬介（ゆさ けいすけ）

所属：熊本大学大学院医学薬学研究部 感染防御学分野

住所：熊本市本荘 2-1-1

研究テーマ：HIV-1 の成熟過程、薬剤耐性獲得メカニズムの解明

ブログ：ウイルス百物語 <http://blog.goo.ne.jp/elizabethq>

Topics on Chemistry

2光子励起を利用した水溶性ユーロピウム錯体のバイオイメージングにおける応用

株式会社同仁化学研究所 野口 克也

現在、生化学分野において様々なバイオイメージング手法を用い、種々のタンパク質やイオンなどの観察や動態を調査することが必須となってきている。特に近年、バイオイメージングで用いられる共焦点顕微鏡など光学機器の発展は目覚しく、一昔前まで観測できなかったものができる時代となっている。例えば、今までFluo-4などCaプローブを用いた研究において、通常の蛍光顕微鏡では平面的にしかCaイオンの分布がわからなかったものが、共焦点顕微鏡により、細胞中のCaイオンの分布を立体的に捉えることができるようになった。共焦点顕微鏡は画像のピンボケが少なく、空間的解析ができるなど、万能のように認識されていることも多いが、レーザー光(特にUV領域)による細胞に対する光毒性や蛍光色素の退色、厚い標本の深部観察が50-60 μmまでしか観察できないなどの問題点もある。

それに対し、1990年にWebbらにより考案された2光子励起顕微鏡は(1)励起波長が生体を透過しやすい近赤外領域であるため、細胞に対する光毒性が少なく、一般的な装置で700 μmぐらいまで深部観察ができる、(2)2光子励起のため、励起される領域が非常に小さく、蛍光色素の退色が最小限に抑えられる、という特徴をもっている。通常、ある波長(λ_{ex} とする)の1つの光子で励起状態になるが、2光子励起という現象では2倍の λ_{ex} の2つの光子を同時吸収して励起状態になる(近赤外での励起が可能)。また、2光子励起は光子密度が極端に高い場所でしか起きず、その確率は焦点からの距離の2乗に比例して低下するため、焦点近傍でのみで生じる(色素の退色による影響減)。以上のことから、2光子(または多光子)励起顕微鏡はバイオイメージングに非常に適した光学機器であるといえる。

今回、A. Picotらが開発した2光子励起可能なピリジンジカルボン酸(DPA)誘導体の配位子(L¹)をもつユーロピウム錯体蛍光色素について紹介する。2光子励起に用いる蛍光色素について重要な値となるのが2光子吸収断面積である。この2光子吸収断面積はGMという単位で表され(1 GM = $1 \times 10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photon}^{-1}$)、

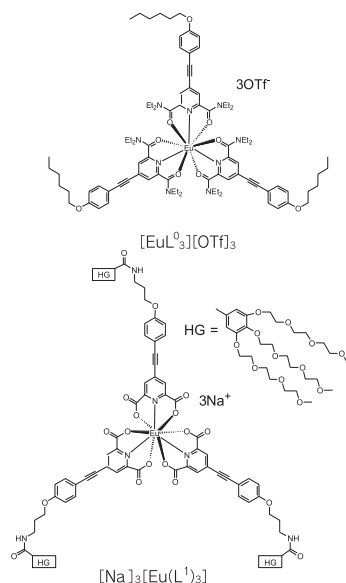


Fig.1 ユーロピウム錯体

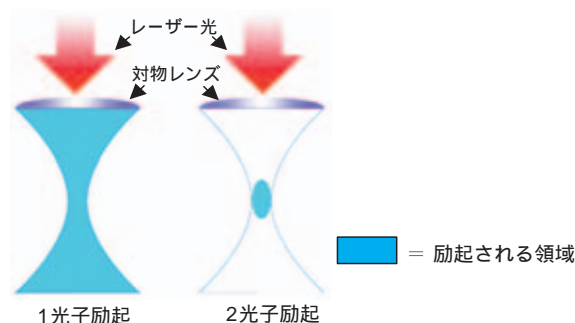


Fig.2 1光子励起と2光子励起における励起領域

励起効率を示す指標の一つであり、この値が大きいほうが蛍光強度が強くなる。例えば、よく使用される蛍光色素である Fluorescein は 840 nm で励起したときに 40 GM である。A. Picot らは最初にピリジンジカルボキシアミド誘導体の配位子(L⁰)を合成し、720 nm で励起したときに 96 GM を示すユーロピウム錯体 $[\text{EuL}^0_3][\text{OTf}]_3$ を作成した。しかし、その錯体は有機溶媒にのみ安定で、水中では不安定であったため、生化学への応用が難しかった。次に合成した配位子L¹をもつユーロピウム錯体 $[\text{Na}]_3[\text{Eu}(\text{L}^1)_3]$ は水溶性で水中でも安定であり、長い蛍光寿命をもち、近赤外である 700-750 nm で2光子励起可能であるという特徴を有している。

配位子L¹はアルコキシ基のドナー部分からピリジン環のアクセプター部分への電荷移動遷移に由来する 318 nm ($25600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) を中心としたブロードな UV-Vis スペクトルを水中で示すが、 Eu^{3+} との錯形成によって、少しレッドシフト(332 nm, $78700 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) した。また、 $[\text{Na}]_3[\text{Eu}(\text{L}^1)_3]$ 錯体の蛍光スペクトルは配位子の電荷移動遷移における励起により非常に強い $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ 遷移を伴う特徴的な Eu^{3+} 発光特性($\lambda_{em} = 613 \text{ nm}$) を示し、量子収率は約 15.7% と良く、水中における蛍光寿命は他の有機発色団(数ナノ秒)より 1.062ms とはるかに長かった。そして、 $[\text{Na}]_3[\text{Eu}(\text{L}^1)_3]$ 錯体の 700 nm における極大2光子吸収断面積は約 92 GM を示した。

さらに、2光子励起顕微鏡と $[\text{Na}]_3[\text{Eu}(\text{L}^1)_3]$ 錯体を用いて、T24 細胞のバイオイメージングを行った。T24 細胞を -20 のエタノール中で固定し、錯体濃度 約 $2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ の PBS 溶液をロードした。760 nm で励起した 2光子励起顕微鏡画像を位相差画像と比較した結果、錯体は主に細胞核周辺に分布しており、その分布は小胞体の分布と似ていた。加えて、強い蛍光が細胞核に見られ、特に核小体部分で最も強かった。

A. Picot らの報告は、2光子励起とランタニド錯体蛍光色素の遅延蛍光を用いた 2光子励起時間分解顕微鏡への応用を示唆するものである。時間分解を利用することにより、細胞の自家蛍光の影響を抑えることができると思われる。今後、この技術から様々な知見が得られることが期待される。

参考文献

(1) A. Picot, A. D'Ale'o, P.L. Baldeck, A. Grichine, A. Duperray, C. Andraud, and O. Maury. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130(5), 1533.

開発中

アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性測定キット

ACE Inhibition Assay Kit

本キットはアンジオテンシン変換酵素(ACE)の阻害活性を測定するためのキットです。アンジオテンシン変換酵素(ACE)は、血圧調節メカニズムの一つであるレニン - アンジオテンシン系において、アンジオテンシン から昇圧作用を有するアンジオテンシン を生成します。また同時に降圧ペプチドであるブラジキニン を分解するなど、血圧上昇に大きく関係している酵素です。昨今、我が国では高血圧などの生活習慣病が社会問題となっており、ACE阻害物質を含む機能食品(特定保健用食品)が多く販売されるなど、生活習慣病の予防が大きな課題として注目を集めています。

従来のACE阻害活性測定法は、合成基質 Hippuryl-His-Leu (HHL)から切り出されてくる馬尿酸を酢酸エチルで溶媒抽出後、濃縮乾固し、再溶解して228 nmの吸光度を測定するという煩雑な方法でした。本キットは、新規合成基質である3-Hydroxybutyrylglycyl-glycyl-glycine(3HB-GGG)と種々の酵素を組み合わせることにより、酢酸エチルのような有機溶媒を使用することなく、多くのサンプルを簡便に測定することが可能です。

3HB-GGGはACEにより3-Hydroxybutyrylglycine(3HB-G)とGlycyl-glycine(GG)に分解されます。更にAminoacylaseで処理することにより3-Hydroxybutyric acid(3HB)が生成されます。3HBはD-3-Hydroxybutyrate dehydrogenase(3HBDH)によりAcetoacetic acid(AA)に変換され、その際NADHが産生されます。産生されたNADHは電子メディエーターを介して水溶性の還元発色試薬であるWST-1を還元し、橙色のWST-1ホルマザンを生成します。WST-1ホルマザンの吸光度(450 nm)を測定することにより、迅速・簡便にACE阻害活性を測定することができます。

<特長>

- 96穴マイクロプレートアッセイ対応。一度に多検体を測定できる(分光光度計での測定も可能)
- 有害な有機溶媒を使用しない

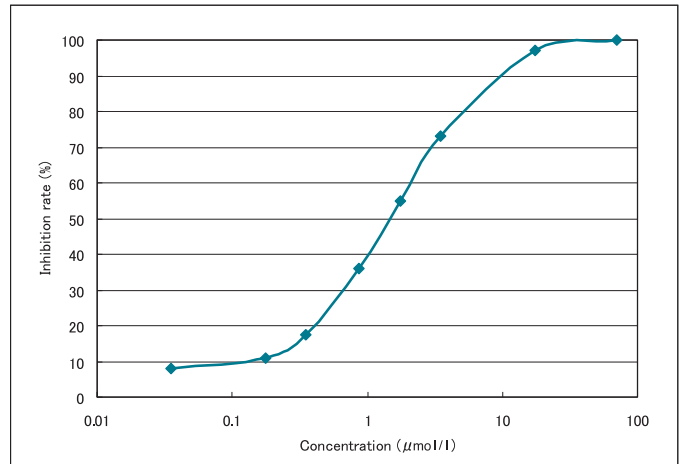


Fig.1 ACE阻害物質による阻害曲線の例

<測定原理>

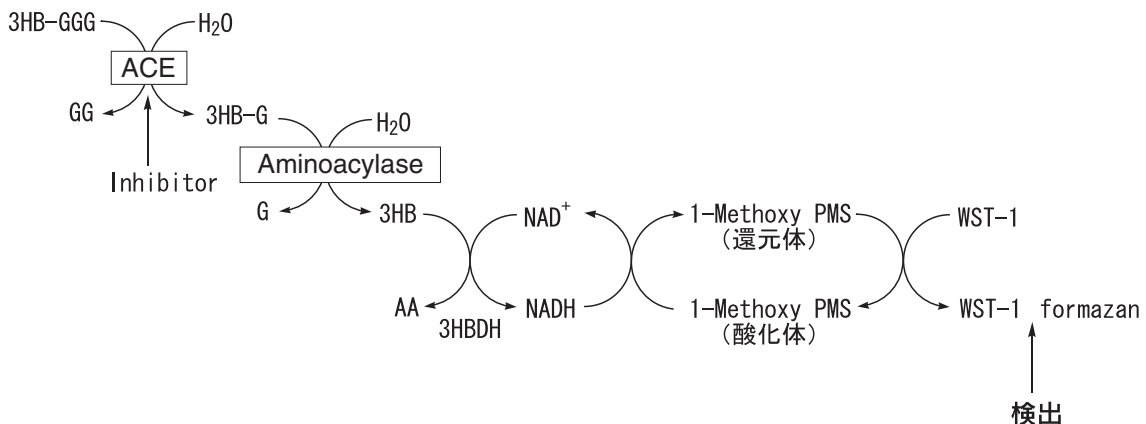


Fig.2 ACE Inhibition Assay Kit測定原理

新製品

過酸化脂質蛍光検出試薬

Spy-LHP

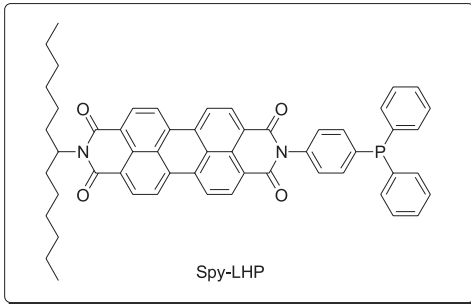


Fig. 2 Spy-LHP (左) 及びその酸化体(右)の蛍光変化写真

<特長>

- 長波長励起なので、生体試料への光ダメージが少なく自家蛍光物質の影響が軽減される
- 脂質への親和性が高く、過酸化脂質に特異的な反応をする

活性酸素種が脳梗塞や癌をはじめとした様々な疾患につながることは、すでに広く知られています。過酸化脂質は、高度不飽和脂肪酸や細胞膜リン脂質が活性酸素種により傷害を受けて生成した過酸化物であり、生体内過酸化脂質の挙動がこうした疾病や疾患に関連付けられ、非常に注目されている化合物です。

古くから不飽和脂肪酸の自動酸化は食品化学などの分野で研究されており、小社でも公定法である過酸化物価(POV)法用の専用製品(AV・POV)Diethyl etherを取り扱っております。

生化学分野では微量の過酸化脂質の高感度で特異的な定量法が望まれており、過酸化脂質の検出・定量法として、ヨウ素滴定法や比色定量法、TBA法、化学発光法などがよく知られています。小社製品であるDPPPは、これらの検出・定量法の問題点である感度、選択性などの種々の問題点を克服した製品ですが、短波長励起による細胞へのダメージや細胞の自家蛍光による影響などの

問題点もあります。

九州大学の宗らによって開発された、Spy-LHP (**S**wallow-tailed **p**erylene derivative for **L**ipid **h**ydroperoxide) は、新規の過酸化脂質の蛍光検出試薬です。トリフェニルホスフィン部で過酸化脂質と特異的に反応し、強い蛍光を発するペリレン環を蛍光基に持っています。また、脂質への親和性を向上させるために長鎖構造を持った構造になっています。蛍光波長は長波長励起 ($\lambda_{ex}=524\text{ nm}$, $\lambda_{em}=535\text{ nm}$)が可能であり、還元体はPeT(Photo-induced Electron Transfer)効果により消光されていますが (Fig.1) 酸化体(ホスフィンオキシド体)は量子収率がきわめて高く ($\Phi \sim 1$ in methanol)、強い蛍光を発します。(Fig.2)。

<参考文献>

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

本製品は、九州大学-同仁化学組織対応型連携の下、NEDO技術開発機構の助成を受けて開発されたものです。

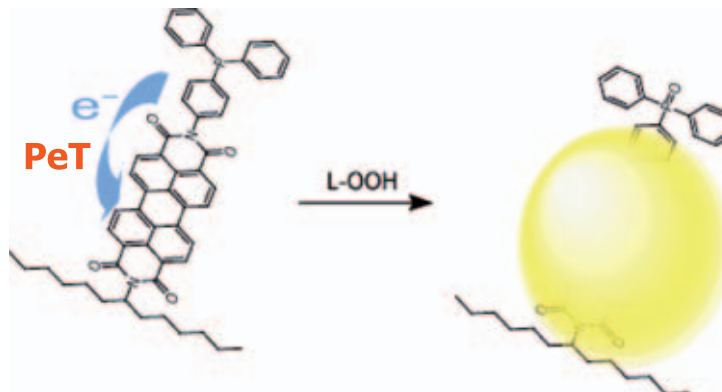


Fig. 1 Spy-LHP の過酸化脂質との反応

| 品名 | 容量 | 価格(¥) | メーカーコード |
|---------|------|--------|---------|
| Spy-LHP | 1 mg | 20,000 | S343 |

Q & A 残留塩素測定キット -SBT 法

発売開始から数年経ち「使いやすい」「信頼できる」と好評をいただいております。その中でお問い合わせの多いご質問について、Q & A としてご紹介いたします。

Q1. 遊離残留塩素を測定しようと思いますが、結合塩素とは反応しますか？

A1. 結合塩素との反応性は非常に低いです。

数分間の反応においては結合塩素ではほとんど発色いたしません。しかし、非常に結合塩素が多い検水において30分ほど「遅れて」発色する現象も見受けられますのでご注意ください。

Q2. 海水中の塩素濃度を測定することはできますか？

A2. 海水中では発色が7～8割程度になる傾向がありますので正確な塩素濃度をそのまま測定することはできません。しかし、存在の有無を確認することは可能です。

Q3. 高濃度の塩素濃度を測定することは出来ますか？

A3. キットでの測定は2 ppmまでとなります。10 ppmくらいまでであれば、2 ppm以上といった感の青色発色が見られます。しかし、10 ppm以上になると、濃度に応じて『色』自体の変調がおこります。たとえば、30 ppmでは、混ぜた後「茶っぽい緑色」になり、約1分後には「淡茶褐色」、30分後「淡黄色」と変化します。

100 ppmでは混ぜた後『茶色』、1分後は『淡黄色』、30分後『無色』となります。

このような変化が見られる場合には、かなり高濃度の遊離残留塩素濃度になっており測定出来ません。

Q4. DPD法で測定できない検水の場合、SBT法で測定することはできますか？

A4. 検水によりますが、測定できる場合もあります。

亜硝酸性窒素などの影響により測定できない場合にはSBT法でも測定は出来ません。

しかし、濁りや金属などが原因の場合にはSBT法で測定できる可能性があります。

そういった検体でお悩みの場合には、一度ご相談ください。

Q5. キットに試薬は入っていますか？

試薬が無くなった場合にはどのように購入すればよいですか？

A5. キットには100回分の試薬が入っています。

添付の試薬が無くなった場合には、使用頻度に合わせて試薬のみをご購入ください。

Q6. 試薬はどのくらいの期間使用できますか？

A6. ご使用・保管の環境にもよりますが、6ヶ月以内に使い切る量をお買い求めください。

<特長>

- ・溶かす手間が不要な溶液タイプ
- ・判定しやすい青緑色の発色
- ・DPDの約2倍の感度
- ・DPDより極めて低い毒性・変異原性
- ・簡単な操作での測定法

残留塩素測定キット-SBT法は、簡単・安全な測定法でどなたにも安心してご使用いただけるという優れた特色をもっております。

これまで残留塩素測定試薬として汎用されていたオルトトリジン、毒性が高いため、2000年4月に上水試験公定法から削除され、現在DPDが公定法として残留塩素測定試薬の主流となっています。ところが、溶液の安定性が悪いDPDは粉末タイプがほとんどで測定の際に開封し溶かす必要があります。特に浴場施設などでは1日に何度も測定が必要なため、この作業の繰り返しで非常に手間がかかっていました。

残留塩素測定キット-SBT法は、溶液タイプですぐに測定ができるため、貴重な時間の節約のお手伝いができ、さらにDPDより毒性が極めて低く、正確な測定ができます。

<キット内容>

検水調整液(白キャップ点眼瓶) 1本
 色素液(青キャップ点眼瓶) 1本
 色調比色計 1式(含標準・高温用色調板 各1板)
 試験管 2本
 スポイド 1本

| 品名 | 容量 | 価格(¥) | メーカーコード |
|----------------|--------|-------|---------|
| 残留塩素測定キット-SBT法 | | | |
| | 1 set | 7,000 | ZK01-50 |
| 残留塩素測定試薬-SBT法 | | | |
| | 100回用 | 1,300 | ZK01-60 |
| | 500回用 | 5,000 | ZK01-60 |
| 色素液 | 100 ml | 9,000 | ZK01-70 |
| 検水調整液 | 200 ml | 5,000 | ZK01-80 |

*初めてご使用の際は、キットをお求めください。試薬(100回用、500回用)および色素液・検水調整液(組み合わせると2000回相当)は、測定回数にあわせて補充用としてお求めください。

*その他の付属品に関しては、別途お問い合わせください。

販売中止品のお知らせ

平素は、同仁化学研究所製品をご使用いただき誠に有難うございます。

2008年2月1日より下記製品の販売を中止させて頂きました。
在庫に関しましては小社マーケティング部までお問い合わせください。

販売中止品

| 同仁コード | コード番号 | 品名 | 容量 |
|---------|-----------|------------------------------|-------------|
| A428 | 340-07851 | Agarose LM200 | 10 g |
| A428 | 346-07853 | Agarose LM200 | 50 g |
| B415 | 349-07681 | BNN 3 | 1 mg |
| B418 | 345-07661 | BNN 5 Na | 1 mg |
| B419 | 342-07671 | BNN 5 methyl ester | 1 mg |
| K007 | 342-05013 | K-TCPB | 1 g |
| NX19 | 344-06592 | Diphenyl phosphorochloridate | 25 g |
| PK02 | 344-03351 | ポナールキット -CN・T | 1 set |
| PK02-50 | 347-03341 | ポナールキット -CN・T 補充薬品 | 1 set |
| GK02 | - | Get pureDNA Kit-Blood | 200 samples |
| T307 | - | TPM-PS | 100 mg |

包装容量削減品(異なる容量で製品販売あり)

| 同仁コード | コード番号 | 品名 | 容量 | 備考 |
|-------|-----------|------------------|--------|----------------------------|
| B012 | 348-00353 | BPA | 5 g | 1 g 製品あり |
| B026 | 341-04503 | 5-Br-PAPS | 1 g | 100 mg 製品あり |
| C016 | 346-00832 | Cu-PAN | 25 g | 1 g, 10 g 製品あり |
| H007 | 345-01463 | HNB | 5 g | 1 g 製品あり |
| N013 | 340-02052 | NN | 25 g | 1 g 製品あり |
| T037 | 341-05343 | TFPB | 500 mg | 100 mg, 1 g 製品あり |
| C348 | 340-07013 | Carboxy-PTIO | 100 mg | Request へ 10 mg 製品あり |
| M014 | 346-05072 | MEGA-8 | 25 g | Request へ 1 g, 5 g 製品あり |
| M015 | 343-05082 | MEGA-9 | 25 g | Request へ 1 g, 5 g 製品あり |
| M016 | 340-05092 | MEGA-10 | 25 g | Request へ 1 g, 5 g 製品あり |
| D535 | - | 3-Deoxyglucosone | 10 mg | 1 mg 製品あり |

(株) 同仁化学研究所 マーケティング部
e-mail: info@dojindo.co.jp
Free dial: 0120-489548 Free fax: 0120-021557
TEL: 096-286-1515 FAX: 096-286-1525

第26版総合カタログ（2008 / 2009）発行しました



表紙デザインを従来のブルー基調から一新して、インパクトのある白を基調とし、液面で水滴が飛び散る様子をドージンのロゴとマッチさせたデザインとしました。

変更・改良点

- ・新製品案内に続いて、GHS 対応ラベルへの変更案内を掲載。
- ・用途別の目次を一つに集めており、製品全体の構成が見える。
- ・従来のプロトコル集に新製品の追加と既存プロトコルのリニューアルも行い、カラー画像を取り入れた操作手順を掲載。
- ・プロトコルナンバーを見出しに付記し、検索も容易。
- ・各ページには、用途ごとの見出しを付記することで、製品全体が把握できるように改善。
- ・カタログの後半には参考資料として、新規にタンパク質分子量一覧、アミノ酸の構造・略号、遠心力と回転数、緩衝液の調製方法の4項目を掲載。
- ・索引では、従来のアルファベット順 INDEX に容量、組セット本数、本体価格、同仁コード及び商品コード（和光コード）を追加。

合わせて、ホームページの商品カタログ、プロトコルの内容も更新しております。
これからも、引き続き皆様のご研究に役立つ情報をご提供して参ります。

尚、カタログ・その他パンフレット類のご請求は、小社マーケティング部までご依頼ください。

**第二回 くまもとバイオビジネス大賞
同仁化学研究所が『大賞』を受賞しました。**

熊本県では、「熊本バイオフォレスト構想」推進のため、バイオテクノロジー関連製品の開発において、産学連携で優れた事業化計画に取り組む企業を表彰しております。
今回、(株)同仁化学研究所、熊本大学大学院医学薬学研究所 佐藤圭創先生、(株)同仁グローバルの三者が推進中の「抗酸化力評価ビジネス」が『大賞』を受賞いたしました！！
詳しくは：<http://www.dojindo.co.jp/news/biobusiness.html> をご覧ください。

ホームページアドレス

- URL : <http://www.dojindo.co.jp/>
- E-mail : info@dojindo.co.jp

- フリーファックス** 0120-021557
- フリーダイヤル** 0120-489548