

# NO を系の中に加えたい

## 使用製品

NOR1	[N388]	NOC5	[N380]
NOR3	[N390]	NOC7	[N377]
NOR4	[N391]	NOC12	[N378]
NOR5	[N448]	NOC18	[N379]

## I はじめに

実験中に NO を添加しようとする際には、NO ガスを溶解した水溶液を添加する方法が最も簡単であり、その調製法も知られているが、揮発性が高いため正確な濃度の水溶液を調製することが難しい。更にこの水溶液を系中に加えたとしても、NO の濃度は急速に減少していくため、その調製や取り扱いはかなり厄介である。

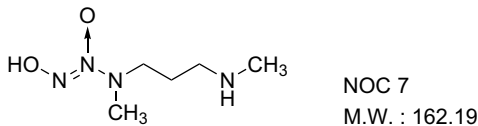
そこで、系中で NO を放出することのできる NO ドナーが NO 発生剤として用いられてきた。この様なドナーとしては、ニトログリセリン (GTN) や硝酸イソソルビド (ISDN) などの有機硝酸エステル類や、ニトロプルシッドナトリウム (SNP)、*N*-ニトロソアセチルペニシラミン (SNAP) などのニトロソチオール類が知られている。しかしながら、GTN、SNP、ISDN などは、NO 発生が自発的でなく、チオールとの代謝によって初めて NO が作られるため、NO 発生量が少なく使用できる系に限られ、サンプルの種類やサンプル中の場所によって NO 発生プロファイルが変化する。また、GTN では耐性にも問題が生じる。SNP は NO 活性の他に、シアノフェリンの生理活性が問題となり、SNP 自身の活性も指摘されている。SNAP は、自発的に NO を発生するが、それに加えて近年、組織により触媒される NO 放出経路があることが指摘されており、既存の NO ドナーを用いても、系中に純粋に NO を作用させたとは言い難い。

これに対し、小社の NOC、NOR は持続的で、NO 発生量と速度がコントロールでき、チオールなどに影響されない自発的な NO ドナーである。ここでは、NOC、NOR を用いた NO 発生系の調製について述べる。

## II NOC の調製法 (NOC 7 溶液作製例)

### 1 試薬

NOC 7 (Code: N377)	16.2 mg
0.1 mol/l NaOH aq. solution	10 ml
100 mmol/l PBS (pH7.4)	任意



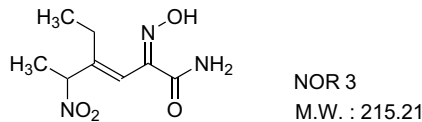
### 2 操作

- 1) NOC 7 を 16.2 mg 秤り取り、0.1 mol/l の水酸化ナトリウム水溶液 10 ml に溶解して 10 mmol/l のストック溶液とする。
- 2) 希望濃度になるように、ストック溶液の一定量を PBS などの緩衝液中に添加するとその時点から、NO 発生が開始する。  
※ストック溶液は用時調製する。0.1 mol/l の水酸化ナトリウムに 10 mmol/l で溶解した場合、冷凍下でも、1日に5~6%程度、NO 放出量が減少するため、1日で使い切る。緩衝液は PBS 以外に HEPES なども使用できるが、NO 放出速度は、pH と温度に影響されるので注意が必要である。生理食塩水のような緩衝作用のないものでは安定した NO 放出が得られない。

## III NOR の調製法 (NOR 3 溶液作製例)

### 1 試薬

NOR 3 (Code: N390)	21.5 mg
(Sp) または (Lu)DMSO (Code: SP10, LU08)	10 ml
100 mmol/l PBS pH7.4	任意



### 2 操作

- 1) NOR 3 を 21.5 mg 秤り取り、(Sp) または (Lu) DMSO 10 ml に溶解して 10 mmol/l のストック溶液とする。
- 2) 希望濃度になるように、ストック溶液の一定量を PBS などの緩衝液中に添加すると、その時点から NO 発生が開始する。

※ストック溶液は用時調製し、1日で使い切ること。緩衝液は PBS 以外に HEPES などでも使用できるが、NO 放出速度は、pH と温度に影響されるので注意が必要である。生理食塩水のような緩衝作用のないものでは安定した NO 放出が得られない。

## 参考文献

- 1) F. T. Bonner, *Methods Enzymol.*, **1996**, 268(A), 50.
- 2) M. Feilisch, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **1991**, 17(Suppl. 3), S25.
- 3) J. A. Bauer, H-L Fung, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1991**, 256, 249.
- 4) L. Kiedrowski, H. Manev, E. Costa, J. T. Wrblewski, *Neuropharmacol.*, **1991**, 30, 1241.
- 5) H. Bohn, K. Sch nafinger, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **1989**, 14(suppl. 11), S6.
- 6) E. A. Kowaluk, R. Poliszczuk, H-K Hung, *Eur. J. Pharmacol.*, **1987**, 144, 379.
- 7) E. A. Kowaluk, H-L. Fung, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1990**, 255, 1256.

表 1 NOC 類と NOR 類の違い

	NOC シリーズ	NOR シリーズ
水溶性	高い	低い
安定性	アルカリ側で安定	酸性側で安定
NO 放出量	2 分子 / NOC 1 分子	1.5 ~ 2 分子 / NOR 1 分子
NO 放出速度	酸性側で速い	アルカリ側で速い
溶液調製法	アルカリ溶液で調製	乾燥 DMSO にて調製
投与方法	注射、他	注射、経口投与が可能

表 2 NOR の半減期 (37°C、pH7.4)(ESR 法により測定) ※

	NOR 1	NOR 3	NOR 4	NOR 5
半減期 t <sub>1/2</sub>	1.8 min	30 min	60 min	20 hr

※ NOR から放出される NO を Carboxy-PTIO にて ESR 法により定量

表 3 NOC の半減期 (37°C、pH7.4) ※

	NOC 5	NOC 7	NOC 12	NOC 18
半減期 t <sub>1/2</sub>	25 min	5 min	100 min	21 hr

※ NOC の分解を吸収スペクトル変化からトレースし定量

細胞  
増殖 / 毒性  
酸化  
ストレス  
分子  
生物学

細胞内  
蛍光プローブ  
細胞  
染色

ミトコンドリア  
関連試薬

細菌研究用  
試薬  
膜タンパク質  
可溶化剤

ラベル  
化剤  
二価性  
試薬  
イオン  
電極

その他

機能性  
有機材料