CONTENTS

●Review

がん細胞を制御するエピジェネティクス
愛知県がんセンター研究所　近藤　豊

「蛍光生物学」の最前線 3
量子ドットを用いたバイオイメージング
産業技術総合研究所　生産計測技術研究センター　大庭　英樹

●Topics on Chemistry

フタロシアニン誘導体を用いた
混合バルクヘテロ接合型有機薄膜太陽電池の作製
株式会社同仁化学研究所　緒方　秀樹

2011 No.140
ISSN 0385-1516

DOJIN NEWS

ドージンニュース

目次

Review
がん細胞を制御するエピジェネティクス
愛知県がんセンター研究所　近藤　豊 …… 1

「蛍光生物学」の最前線 3
量子ドットを用いたバイオイメージング
産業技術総合研究所　生産計測技術研究センター
大庭　英樹 …… 6

Topics on Chemistry
フタロシアニン誘導体を用いた混合バルクヘテロ接合型有機薄膜太陽電池の作製
株式会社同仁化学研究所　緒方　秀樹 …… 10

Commercial
新製品
膜タンパク質可溶化剤
n-Undecyl-β-D-maltoside …… 14
製品紹介
二次元電気泳動用タンパク質溶解剤
SpotRight™ シリーズ …… 12
試作品
近赤外蛍光色素標識試薬
ICG-maleimide …… 9
新規デタージェント
Trehalose エーテル型 …… 14
自己組織化単分子膜作製用試薬
アルカンチオール類 …… 15
高感度グルタチオン分別定量キット
Fluorometric GSSG/GSH Quantification Kit …… 16
アセチルコリンエステラーゼ活性測定用キット
AChE-Specific Assay Kit …… 17

開発中
表面処理用ホスホン酸誘導体
FOPA …… 11
タンパク質質量分析用試薬
タンパク質消化試薬 …… 15
関連製品
機能性有機材料
Bathocuproine, sublimed …… 11
新規デタージェント
Trehalose エステル型 …… 14
お知らせ
第 22 回フォーラム・イン・ドージン開催 …… 18

新製品案内

膜タンパク質可溶化剤

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
n-Undecyl-β-D-maltoside			
	1 g	23,000	U214
	5 g	91,000	U214

熊本城　昭君之間
床・棚・付書院を備え、障壁画は中国の故事「王昭君」の物語が描かれています。その存在については、徳川家の時代を迎えながらも、豊臣秀吉の重臣であった加藤清正公の思いを偲ばせる逸話が残っています。

がん細胞を制御するエピジェネティクス
Implications of Epigenetic Alterations in Human Neoplasia

近藤　豊（Yutaka Kondo）

愛知県がんセンター研究所
分子腫瘍学部

要約

Besides known genetic changes, aberrant epigenetic alterations have emerged as common hallmarks of many human cancers. Epigenetic silencing in cancer cells is regulated by multiple factors, DNA methylation, histone modifications, chromatin structure, and non-coding RNA. It has been recognized that dysregulation of epigenetic mechanisms is found in almost all types of cancers and contributes to malignant transformation via silencing multiple tumor suppressor genes. Therefore, deciphering the epigenetic signature in each tumor type is required to better understand tumor behavior and might be of benefit for clinical diagnostics and therapy. In this essay, the current key topics including our findings in cancer epigenetics are introduced and briefly discussed.

キーワード：
エピジェネティクス、がん、DNA メチル化、ヒストン修飾、がん幹細胞

1. はじめに

分子生物学の進歩に伴い、生体内での分子相互作用に基づく生命現象や、その調節異常に起因する様々な疾患発症のメカニズムが明らかになりつつある。細胞の働きを調節するタンパク質の発現には、遺伝子の転写・翻訳が関わっており（ジェネティクス）、遺伝子の転写・翻訳の調節にはエピジェネティクスが寄与している。さらにエピジェネティクスは、タンパク質により制御されていることから、生命機能に関わるジェネティクスーエピジェネティクスータンパク質の統合的調節機構は、生命現象の中心的役割を担っていると考える。

エピジェネティクスは、細胞の発生・分化・老化、リプログラミングなど多彩な生物学的現象に関わっている。細胞のリプログラミングに関わることから再生医療・生殖医療分野に欠かせない概念であり、またエピジェネティクスの異常は、統合失調症や生活習慣病、そして、とりわけがんの発症に深く関与すると考えられている。

現在、日本人の 3 人に 1 人はがんで死亡するとされており、働き盛りの年代におけるがん死は社会的問題にもなっている。一般

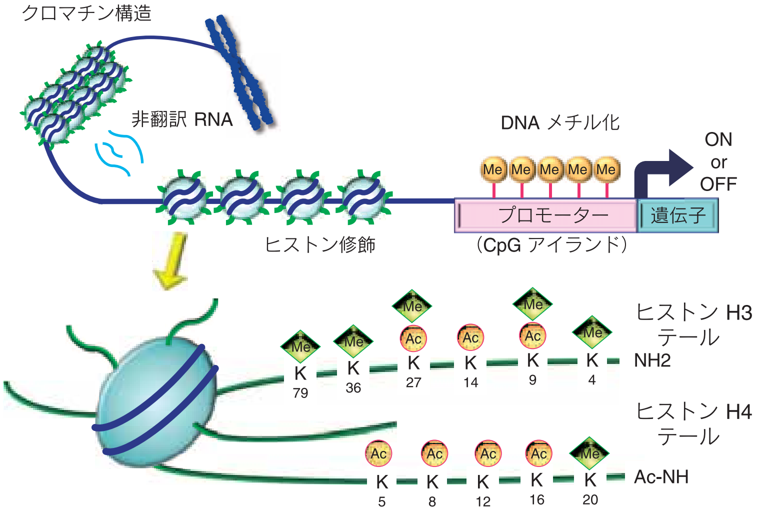


図 1　エピジェネティクス修飾とヒストン修飾
可逆性のあるヒストン修飾、クロマチン再構築、非翻訳 RNA と安定した修飾である DNA メチル化がエピジェネティクスを制御する主な機序である。CpG が高密度に存在する CpG アイランドプロモーター領域が DNA メチル化修飾されると遺伝子発現は抑制される。ヒストンの N 末端を構成する 20-30 のアミノ酸は立体構造に乏しく、ヒストンテールとよばれ、種々の修飾ターゲットとなる（図はヒストン H3 と H4 のテール）。とくにリシンはメチル化（Me）アセチル化（Ac）などで修飾され遺伝子のオン・オフに関わる。ヒストン H3-K4、H3-K36、H3-K79 のメチル化は一般に転写活性と関連しているのに対して、ヒストン H3-K9、H3-K27、H4-K20 は転写抑制に関与している。

に固形腫瘍は組織多様性を示すことが多く、腫瘍内に高い転移能・浸潤能を持った細胞集団が存在する場合がしばしば見られる。医療の進歩によりがんに対する治療成績が向上しつつあるが、浸潤・再発・転移をきたすがんは、依然として有効な治療法が限られ克服すべき課題である。

最近の研究から、がん細胞にはジェネティックな遺伝子異常に加えて、様々なエピジェネティック異常が蓄積していることが明らかになってきた。エピジェネティック異常はがんの発生早期の段階から発育進展にいたるまで、その特性に大きく影響を与えている。エピジェネティックな異常の影響は、広範に遺伝子制御異常に及ぶと考えられており、がんにおけるエピジェネティック異常の解明は、がん医療を考えていく上で喫緊の課題である。エピジェネティック機構には、安定した修飾であるDNAメチル化、可逆性を保持しているヒストン修飾、さらにはクロマチン構造変化や、非翻訳RNAなどの複数のエピジェネティクス機構が多彩なクロストークを介して遺伝子発現を調整している（図1）。

最近DNAメチル化やヒストン修飾異常を標的とした治療が臨床の場に取り入れ始めており、がん細胞におけるエピジェネティクス制御機構を理解することは、がんの発生・進展に関わる制御機構の解明につながり、有効な診断・治療標的としての展望が期待できる。

2. DNAメチル化異常

ヒトの遺伝子を詳しく観察すると、限局的にCpGに富む500－2000 bpの領域があり、この領域のCpGのシトシンはメチル化修飾されていない（CpGアイランド）。ヒトのハウスキーピング遺伝子（細胞が生存するために必須なたんぱく質をコードする遺伝子群）の約60% はCpGアイランドをプロモーター領域に有すると考えられている。1990年代に入り、がん抑制遺伝子であるRb遺伝子のCpGアイランドのDNAメチル化と遺伝子発現抑制との関連が発見された[1]。その後相次いでDNAメチル化と遺伝子発現抑制との相関が、がん抑制遺伝子であるp16遺伝子やVHL遺伝子などで報告され、現在では、DNAメチル化は遺伝子不活化機構の中で欠失・変異に次ぐ第3のメカニズムとして認識されつつある[2]。腫瘍とDNAメチル化異常の関連は、古くはメチル化シトシンの含有量の検討より、腫瘍では一般にDNAは低メチル化状態にあることがわかっていた。腫瘍の低メチル化はゲノム内の反復配列の低メチル化に起因すると考えられている。すなわちがん細胞におけるDNAメチル化は、ゲノム全体の低メチル化状態と特定の遺伝子のCpGアイランドにおける高メチル化が特徴であり、正常細胞とは異なった状態となっている。

がん細胞では、DNAメチル化によってしばしば複数の遺伝子が同時に抑制されている。DNAメチル化の頻度は遺伝子ごとに異なり、加齢とともにDNAメチル化レベルが上昇する遺伝子や、がん特異的にDNAメチル化する遺伝子があることがわかっている。がん細胞の由来臓器によってもターゲットとなる遺伝子は異なる[3, 4]。こうしてみるとDNAメチル化異常は、一見ランダムな事象のように思えるが、実際はランダムではなく選択性があることがわかっている。また最近の網羅的解析により、発がん過程に関連しない遺伝子のCpGアイランドが高頻度にメチル化していることが見出されていることから、必ずしも増殖に有利なように遺伝子がメチル化するわけではないこともわかってきた[5]。

DNAメチル化標的遺伝子のうち、E-cadherin（CDH1）やTissue inhibitor of metalloproteinase-3（TIMP-3）遺伝子等のがんの浸潤・転移を抑制する遺伝子がサイレンシングされると、がんは高転移能・高浸潤能をもつがんになる。またO6-methylguanine DNA methyltransferase（MGMT）遺伝子がメチル化すると、遺伝子修復に異常が起こる[6]。さらに大腸がん、脳腫瘍（グリオーマ）、乳がんの一部の症例でDNAメチル化が高頻度に蓄積し（CIMP: CpG island methylator phenotype)、特異な臨床像を示すことが報告されており、DNAメチル化異常は、がんの病態に影響していると考えられる[7-9]。したがって、がん細胞に特徴的なDNAメチル化異常の検出、さらにがんの性質に影響を与える特徴的なエピジェネティクスプロファイルを明らかにすることは、がんの個性に応じた治療方針決定にもつながると考える。

3. DNAメチル化異常の診断への応用

がんの診断マーカーとしてのDNAメチル化異常の検出はいくつかの利点がある。例えば、① DNAメチル化は安定した修飾であり、DNA自身もRNAやタンパクに比べると非常に安定しているため検体として用いやすい、② MethyLightやパイロシークエンス法などの精度の高い比較的簡便なアッセイ法がある、③がんに特異的にDNAメチル化する遺伝子が存在する、などが挙げられる[10]。上述のように一部のがんでは、DNAメチル化異常が、がんの病態と関連しているため、DNAメチル化異常の検出を、がんの診断・治療に応用する試みが行われている。

MGMT遺伝子のメチル化は、グリオブラストーマに対するアルカリ化剤（Temozolomide）治療への感受性を評価するために有用である[11]。喫煙者の喀痰中のp16、MGMTのメチル化検出は、非小細胞性肺がんと臨床的に診断される約3年前から既に検出できると報告されており、早期診断マーカーとしてのDNAメチル化の有用性が示された[12]。最近、私たちの研究室では網羅的解析から、がんの中でも、特にこれまであまり解析がされていなかった腫瘍に焦点を絞り、存在・病態診断に応用できるマーカーの同定を試みている。悪性胸膜中皮腫はアスベストの暴露後に発症する予後が極めて悪い疾患である。悪性胸膜中皮腫と肺腺がんの網羅的なメチル化解析を行い、中皮腫特異的にメチル化している遺伝子を見出した（図2）。これらのマーカーを用いた胸水などの臨床検体への応用が期待できる[13]。消化管間質腫瘍（Gastrointestinal stromal tumor, GIST）は、KIT遺伝子やPDGFR α 遺伝子の変異を早期から高頻度に認める。しばしば高悪性度のGISTに進展するが、その予測分子マーカーはほとんどわかっていない。高悪性度GISTと低悪性度GISTの網羅的DNAメチル化解析を行い、両者を区別するマーカーを同定した。またその過程で胃に発生するGISTと小腸に発生するGISTは、異なったDNAメチル化プロファイルを呈しそれぞれ独立した疾患であると考えた[14]（図2）。

大腸がんでは、CIMP（上述）の存在が1990年代後半より提唱されてきたが、最近DNAメチル化の網羅的解析により、脳腫瘍（グリオブラストーマ）、乳がんでその存在が証明され、特徴的な臨床像を呈することがわかってきた[7, 9, 8]（表1）。これまでの研究から、さらに別のがん種でもCIMPが存在する可能性が高いと考えられる。その証明には、まずDNAメチル化の網羅的解析によりメチル化が高度蓄積したCIMP症例を同定し、それらのCIMP症例を効率的に選別可能なメチル化マーカーを用いて、CIMP症例の特徴的な臨床病理学的背景を明らかにすることが必要である。さらに臨床像を明らかにすることで、それらのがんの個性に合わせた治療法を将来選択することが期待される。

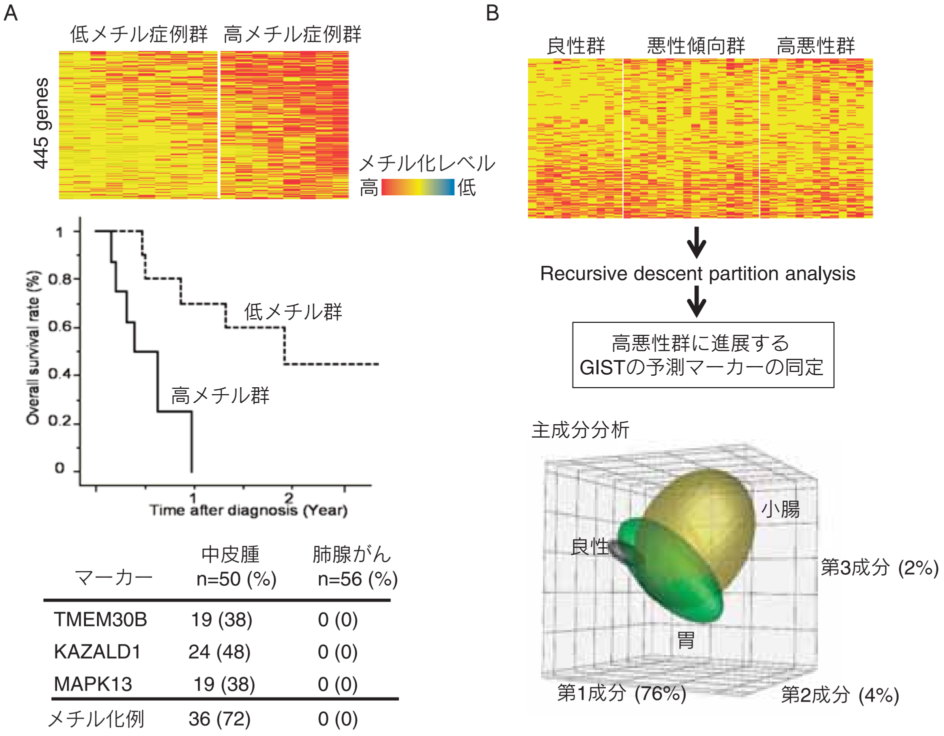


図 2　DNA メチル化網羅的解析によるヒトがん診断マーカーの開発

A. 悪性中皮腫（中皮腫）18 症例の DNA メチル化様式について、プロモーターマイクロアレイを利用し検討した。アレイ上の 445 遺伝子を用いて中皮腫は、メチル化様式により 2 群に分けることができ（上段）、メチル化の多い群のほうが少ない群に比べて予後不良であった（中段）。また中皮腫で特異的にメチル化しており、肺腺がんではメチル化の認められなかった遺伝子をマイクロアレイから同定し、メチル化検出 PCR を用いて多数症例で検討したところ、中皮腫に特異的なメチル化が証明された（感度 72%、特異度 100%）（下段）。B. 消化管間質腫瘍（Gastrointestinal stromal tumor, GIST）はしばしば高悪性度の GIST に進展するが、その予測分子マーカーはほとんどわかっていない。高悪性度 GIST と低悪性度 GIST の網羅的 DNA メチル化解析を行い、両者を区別するマーカーを同定した。また主成分分析から、良性 GIST（紫）は、悪性 GIST と異なるメチル化プロファイルを示し、さらに胃に発生する悪性 GIST（黄）と小腸に発生する悪性 GIST（緑）は、異なった DNA メチル化プロファイルを示した（下段）。

表 1　主な DNA メチル化高集積腫瘍（CIMP）の特徴

がん種	特徴
大腸 CIMP	女性、右側結腸、高齢者、粘液産生性、予後良好、BRAF 変異を伴う
グリオブラストーマ（G-CIMP）	比較的若年者、low grade 腫瘍、secondary glioblastoma、予後良好、IDH1 変異を伴う
乳がん（B-CIMP）	ホルモンレセプター（ER/PR）陽性、予後良好

4. がんの可塑性に関わるエピジェネティクス

一方、がん形成に寄与するエピジェネティック異常は、DNA メチル化のみならず、ヒストン修飾による遺伝子の不活化も重要な役割を果たしている（図 1）。抑制系のヒストン修飾としてヒストン H3 リシン（K）9 のメチル化は DNA メチル化と共存することが多く、強固な遺伝子不活化機構として働く[15]。別の抑制性ヒストン修飾である H3K27 トリメチル化（H3K27me3）は DNA メチル化に非依存的に遺伝子を不活化可能であり[16]、さらに一部の遺伝子では DNA メチル化に先行する修飾でもあることがわかってきた。がん細胞ではこうした複数のエピジェネティクス機構がネットワークを形成し、がんの発生・進展に関わっていると推測される（図 3）。

最近、胚性幹細胞（ES 細胞）を用いた研究から、その分化制御にはポリコームタンパクを介した H3K27me3 修飾が深く関与していることが分かってきた。がんが元来モノクローナルな増殖細胞を起源とすると考えると、がん細胞においても組織多様性を獲得していく過程で、ポリコームタンパクをはじめとするエピジェネティクス機構が、その分化を制御している可能性が予測される。がん組織内には自己複製能と多分化能を持つ幹細胞様がん細胞（がん幹細胞）が存在すると考えられている[17, 18]。私たちの研究室では、固形腫瘍が組織多様性を示す背景に、がん幹細胞の存在と、可塑性のあるエピジェネティックな制御機構が関与していると考え、脳腫瘍幹細胞（Glioma stem cell, GSC）を樹立して、その腫瘍細胞分化に関わるエピジェネティクス機構の解明を試み

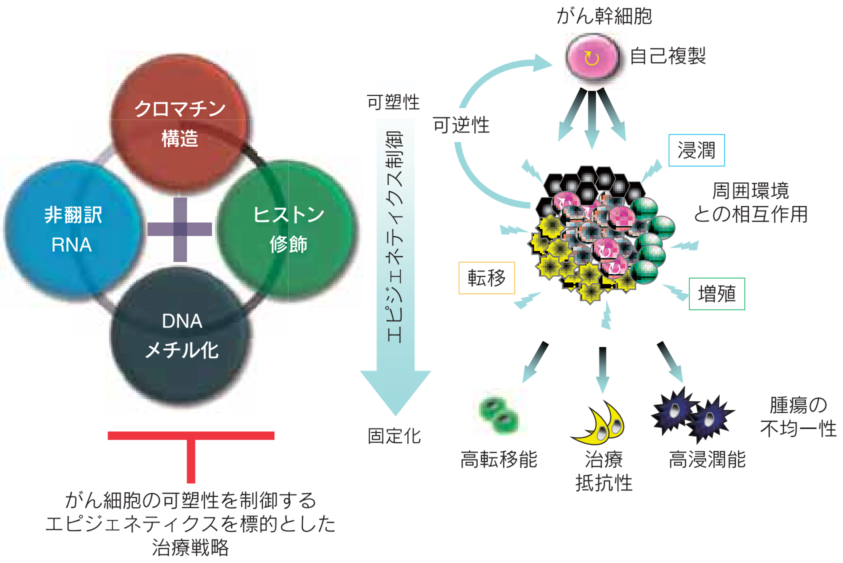


図 3　エピジェネティクス制御とがん細胞分化
がん幹細胞は増殖･浸潤する過程で周囲環境の影響を受けながら適応していく。その過程は可塑性のあるエピジェネティクスによって制御されている可能性が考えられる。周囲環境に適応した細胞は、やがて DNA メチル化という安定した修飾で遺伝子が固定化される。可塑性のあるがん細胞を効果的に治療するためには、がん細胞のエピジェネティクス可塑性を標的とした治療法が必要であると考える。

ている。GSC の分化誘導にはポリコームタンパクのひとつである EZH2（H3K27 メチル化酵素）をはじめとするエピジェネティクス機構が、その分化を制御している可能性が予測されるデータを得ている。様々な腫瘍でがん幹細胞の存在が考えられているが、このがん幹細胞の維持にも ES 細胞と同様にポリコームタンパクによる可塑性のある遺伝子制御が重要な働きをしていると推測される。がん細胞は増殖、浸潤、転移していくなかで周囲の環境からの影響を受けながらその環境に適応していくが、その際にも H3K27me3 修飾を中心としたエピジェネティクス制御機構が関与していると考える。この機構により、がん細胞は可塑性を保ち、高い転移能、浸潤能、治療抵抗性といったがん組織の不均一性や多様性の形成につながると考える。さらに H3K27me3 修飾という可塑性のある変化は、やがて DNA メチル化という安定した変化に置き換わるのかもしれない（図 3）[19]。

5. エピジェネティクス治療に向けて

上述のようにがん細胞のエピジェネティック異常は多彩にがんの生物学的特性に関わっている。エピジェネティクス治療の目標は、エピジェネティック異常により脱制御されている遺伝子機能を正常状態に戻すことにある。DNA メチル化により発現抑制されたがん抑制遺伝子は、DNA 脱メチル化剤治療により再活性化を目指すことが可能である。臨床で用いられている脱メチル化剤には 5-azacytidine、5-aza-2' -deoxycytidine があり、両者ともヌクレオチドのアナログとして DNA 合成の際に取り込まれ、DNA メチル化酵素をトラップすることでその活性を抑える[20]。日本でも骨髄異形成症候群の治療に取り入れられており、奏効率は 20 - 30％と報告されている。特に DNA 脱メチル化剤による治療反応性が良い症例群では、治療後の脱メチル化レベルの変化がより顕著である[21]。現在 DNA 脱メチル化剤は、骨髄異形成症候群のみではなく急性骨髄性白血病などの血液腫瘍に対しても治験が進められている[22]。

ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤のうち臨床応用にされている薬剤は、バルプロン酸、suberoylanilide hydroxamic acid（SAHA）などで、血液腫瘍を中心にこれらの薬剤を用いた治療が行われている。HDAC 阻害剤は p21 の発現を誘導することや、p53 を活性化することで、細胞周期を停止させたり、アポトーシスを誘導することにより抗腫瘍効果を示すと考えられている。また不活化された遺伝子のアセチル化を誘導することで複数の遺伝子の再活性化にもつながる。

HDAC 阻害剤とその他の分子標的治療薬との併用も試みられている。急性前骨髄球性白血病（APL）は、ビタミン A 製剤であるオールトランスレチノイン酸（ATRA）による分化誘導療法が有効な場合が多いが、時に ATRA 治療抵抗性の APL も存在する。そのような APL に対して HDAC 阻害剤と ATRA の併用によって分化が誘導された報告がある[23]。一般に EGFR（上皮成長因子受容体）に変異がある非小細胞性肺がんはチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）に感受性が高い。TKI に耐性を示すようになった EGFR 変異型肺がん細胞株に対して、HDAC 阻害剤と TKI の併用投与を行った結果、TKI 感受性が回復し増殖抑制効果が見られるようになった[24]。

ヒストンメチル化酵素阻害剤の臨床応用も進みつつある。3-deazaneplanocin A（DZNep）はもともと抗ウイルス剤として開発されたが、EZH2 を含む PRC2 を阻害することで H3K27 トリメチル化を抑え、がん細胞をアポトーシスに導くことができると報告された[25]。Suva らは脳腫瘍のがん幹細胞において DZNep は形態の変化をおこし、増殖抑制をもたらすことを報告している[26]。米国では Epizyme 社と GlaxoSmithKline 社が EZH2 阻害剤を同定し、臨床応用への展開を急速に進めている。

近年のがん治療では発がんに関わる固有の分子を標的とする分子標的薬が開発され、すぐれた効果を示している。エピジェネ

ティクスを標的とした治療薬も臨床応用され、一部の腫瘍に対して有効であることがわかり、がん治療戦略の新しい選択肢となりつつある。一方でがんのエピジェネティクス治療にはいくつかの問題が残されている。例えば脱メチル化剤やヒストンアセチル化酵素阻害剤といったエピジェネティクス治療薬は、修飾酵素の阻害が直接の作用であり、他の分子標的薬と同様に作用機序が明確であるが、その下流の標的には不明な点が多い。また多彩なエピジェネティクス機構に対して治療薬の種類が限られており、新たな治療薬の開発が切望されている。今後、真の分子標的薬としてのエピジェネティクス治療を展開していく上で、特異性をどのようにあげていくか、またどの症例に対してエピジェネティクス治療を行っていくかは重要な課題である。より有効な治療法を選択する上で、個々のがんのエピジェネティック異常についての研究の展開が期待される。

［参考文献］

1） N. Ohtani-Fujita, T. Fujita, A. Aoike, N. E. Osifchin, P. D. Robbins, T. Sakai, CpG methylation inactivates the promoter activity of the human retinoblastoma tumor-suppressor gene, *Oncogene*, **1993**, *8*, 1063-1067.
2） P. A. Jones, S. B. Baylin, The epigenomics of cancer, *Cell*, **2007**, *128*, 683-692.
3） Y. Kondo, J. P. Issa, Epigenetic changes in colorectal cancer, *Cancer Metastasis Rev.*, **2004**, *23*, 29-39.
4） S. B. Baylin, J. E. Ohm, Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction?, *Nat. Rev. Cancer*, **2006**, *6*, 107-116.
5） H. Cedar, Y. Bergman, Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms, *Nat. Rev. Genet.*, **2009**, *10*, 295-304.
6） P. A. Jones, S. B. Baylin, The fundamental role of epigenetic events in cancer, *Nat. Rev. Genet.*, **2002**, *3*, 415-428.
7） M. Toyota, N. Ahuja, M. Ohe-Toyota, J. G. Herman, S. B. Baylin, J. P. Issa, CpG island methylator phenotype in colorectal cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, *96*, 8681-8686.
8） F. Fang, S. Turcan, A. Rimner, A. Kaufman, D. Giri, L. G. Morris, R. Shen, V. Seshan, Q. Mo, A. Heguy, S. B. Baylin, N. Ahuja, A. Viale, J. Massague, L. Norton, L. T. Vahdat, M. E. Moynahan, T. A. Chan, Breast cancer methylomes establish an epigenomic foundation for metastasis, *Sci. Transl. Med.*, **2011**, *3*, 75ra25.
9） H. Noushmehr, D. J. Weisenberger, K. Diefes, H. S. Phillips, K. Pujara, B. P. Berman, F. Pan, C. E. Pelloski, E. P. Sulman, K. P. Bhat, R. G. Verhaak, K. A. Hoadley, D. N. Hayes, C. M. Perou, H. K. Schmidt, L. Ding, R. K. Wilson, D. Van Den Berg, H. Shen, H. Bengtsson, P. Neuvial, L. M. Cope, J. Buckley, J. G. Herman, S. B. Baylin, P. W. Laird, K. Aldape, Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma, *Cancer Cell*, **2010**, *17*, 510-522.
10） P. W. Laird, The power and the promise of DNA methylation markers, *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, *3*, 253-266.
11） M. Esteller, J. Garcia-Foncillas, E. Andion, S. N. Goodman, O. F. Hidalgo, V. Vanaclocha, S. B. Baylin, J. G. Herman, Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents, *N. Engl. J. Med.*, **2000**, *343*, 1350-1354.
12） S. A. Belinsky, Gene-promoter hypermethylation as a biomarker in lung cancer, *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, *4*, 707-717.
13） Y. Goto, K. Shinjo, Y. Kondo, L. Shen, M. Toyota, H. Suzuki, W. Gao, B. An, M. Fujii, H. Murakami, H. Osada, T. Taniguchi, N. Usami, M. Kondo, Y. Hasegawa, K. Shimokata, K. Matsuo, T. Hida, N. Fujimoto, T. Kishimoto, J. P. Issa, Y. Sekido, Epigenetic profiles distinguish malignant pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma, *Cancer Res.*, **2009**, *69*, 9073-9082.
14） Y. Okamoto, A. Sawaki, S. Ito, T. Nishia, T. Takahashi, M. Toyota, H. Suzuki, Y. Shinomura, I. Takeuchi, K. Shinjo, B. An, H. Ito, K. Yamao, M. Fujii, H. Murakami, H. Osada, H. Kataoka, T. Joh, Y. Sekido, Y. Kondo, Aberrant DNA methylation associated with aggressiveness of gastrointestinal stromal tumor, *Gut*, in press.
15） Y. Kondo, L. Shen, P. S. Yan, T. H. Huang, J. P. Issa, Chromatin immunoprecipitation microarrays for identification of genes silenced by histone H3 lysine 9 methylation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2004**, *101*, 7398-7403.
16） Y. Kondo, L. Shen, A. S. Cheng, S. Ahmed, Y. Boumber, C. Charo, T. Yamochi, T. Urano, K. Furukawa, B. Kwabi-Addo, D. L. Gold, Y. Sekido, T. H. Huang, J. P. Issa, Gene silencing in cancer by histone H3 lysine 27 trimethylation independent of promoter DNA methylation, *Nat. Genet.*, **2008**, *40*, 741-750.
17） S. K. Singh, C. Hawkins, I. D. Clarke, J. A. Squire, J. Bayani, T. Hide, R. M. Henkelman, M. D. Cusimano, P. B. Dirks, Identification of human brain tumour initiating cells, *Nature*, **2004**, *432*, 396-401.
18） C. A. O'Brien, A. Pollett, S. Gallinger, J. E. Dick, A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice, *Nature*, **2007**, *445*, 106-110.
19） P. B. Gupta, C. L. Chaffer, R. A. Weinberg, Cancer stem cells: mirage or reality?, *Nat. Med.*, **2009**, *15*, 1010-1012.
20） C. B. Yoo, P. A. Jones, Epigenetic therapy of cancer: past, present and future, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2006**, *5*, 37-50.
21） L. Shen, H. Kantarjian, Y. Guo, E. Lin, J. Shan, X. Huang, D. Berry, S. Ahmed, W. Zhu, S. Pierce, Y. Kondo, Y. Oki, J. Jelinek, H. Saba, E. Estey, J. P. Issa, DNA methylation predicts survival and response to therapy in patients with myelodysplastic syndromes, *J. Clin. Oncol.*, **2010**, *28*, 605-613.
22） J. Chen, O. Odenike, J. D. Rowley, Leukaemogenesis: more than mutant genes, *Nat. Rev. Cancer*, **2010**, *10*, 23-36.
23） K. Kitamura, S. Hoshi, M. Koike, H. Kiyoi, H. Saito, T. Naoe, Histone deacetylase inhibitor but not arsenic trioxide differentiates acute promyelocytic leukaemia cells with t(11;17) in combination with all-trans retinoic acid, *Br. J. Haematol.*, **2000**, *108*, 696-702.
24） S. V. Sharma, D. Y. Lee, B. Li, M. P. Quinlan, F. Takahashi, S. Maheswaran, U. McDermott, N. Azizian, L. Zou, M. A. Fischbach, K. K. Wong, K. Brandstetter, B. Wittner, S. Ramaswamy, M. Classon, J. Settleman, A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations, *Cell*, **2010**, *141*, 69-80.
25） J. Tan, X. Yang, L. Zhuang, X. Jiang, W. Chen, P. L. Lee, R. K. Karuturi, P. B. Tan, E. T. Liu, Q. Yu, Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells, *Genes. Dev.* **2007**, *21*, 1050-1063.
26） M. L. Suva, N. Riggi, M. Janiszewska, I. Radovanovic, P. Provero, J. C. Stehle, K. Baumer, M. A. Le Bitoux, D. Marino, L. Cironi, V. E. Marquez, V. Clement, I. Stamenkovic, EZH2 is essential for glioblastoma cancer stem cell maintenance, *Cancer Res.*, **2009**, *69*, 9211-9218.

著者プロフィール

氏名：近藤　豊（Yutaka Kondo）45 歳
所属：愛知県がんセンター研究所　分子腫瘍学部
住所：〒 464-8681　愛知県名古屋市千種区鹿子殿 1-1
TEL：052-762-6111（7073）　FAX：052-764-2993

1990 年名古屋市立大学医学部卒（MD）、卒後 6 年ほど臨床医をしていましたが、思い立って大学院に進学し 2000 年 PhD 取得。

現在の研究テーマは、がんエピジェネティクス、エピジェネティクスを標的とした診断・治療法の開発。趣味は読書、音楽鑑賞。植物を育てること。肉を焼いて食べること。植えた草木が、ある時期に芽吹き開花するのを目にすると自然の力強さに感動します。

「蛍光生物学」の最前線
3
量子ドットを用いたバイオイメージング

大庭　英樹
産業技術総合研究所
生産計測技術研究センター・表面構造計測チーム

1. 量子ドットとは

量子ドットは微小な空間内に電子を閉じ込めるために人工的に作られた蛍光性のナノ粒子で、サイズは通常 1 - 10 nm（1 nm = 10 億分の 1m）であり、以下のようないくつもの特徴と有機系の蛍光色素にはない優れた利点を持っている。

1）量子閉じ込め効果によってエネルギー準位は原子のように飛び飛びになっている。この飛び飛びになったエネルギー準位の間隔（バンドギャップ）は粒子のサイズに依存していることから、例えば、CdSe のように同じ Cd と Se を組み合わせた場合でも、粒子のサイズを変えることによって、発する蛍光の色を自由に変えることが可能である（図 1(A)）。すなわち、単一波長の励起光源を用いてサイズの異なる量子ドットを励起することにより、サイズに依存した蛍光色を同時に発することが可能となる。

2）生体組織や細胞内に存在する NADPH やリボフラビンなどの生体分子に起因する自家蛍光の蛍光寿命が 2 ナノ秒以下と非常に短いのに対して、量子ドットの蛍光寿命は 20 ナノ秒とはるかに長い。そのために励起してから 20 ナノ秒後に蛍光測定を行えば、自家蛍光によるバックグラウンドの影響を最小限に抑えて、量子ドット由来の蛍光のみを高い S/N 比で測定することが可能である。

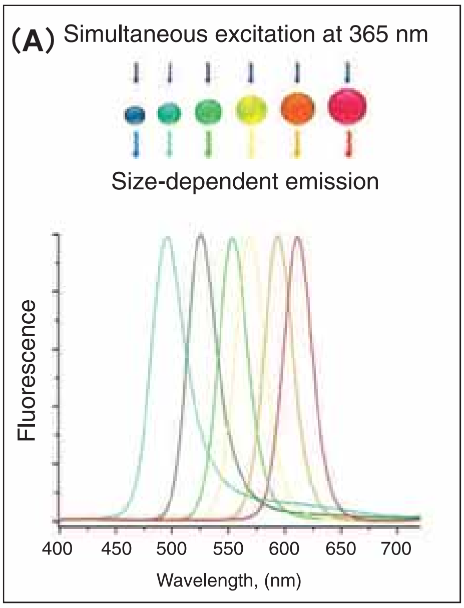
3）蛍光スペクトルは幅が狭くシャープであり、しかも長波長側に裾を引かないので、互いの蛍光色を識別するのが容易である（図 1(B)）。

4）吸収帯は短波長側に向かうほど光吸収係数が増大し、分布も連続的であることから、蛍光波長よりも十分に短波長側の波長で励起することが可能なため、励起光の影響を抑えながら蛍光スペクトルの全領域で蛍光を測定することが可能である。

5）光退色に対して非常に堅牢であるため、長時間の蛍光観察が可能になる。

このような優れた特性を併せ持つ量子ドットをバイオ分野で生体分子や生体組織を可視化するための蛍光プローブとして活用するための研究が近年盛んに行われている。

我々はこれまでに量子ドットに関する技術開発について、合成から応用まで幅広く取り組んできた[1-6]が、ここでは量子ドットのバイオイメージングの実例をいくつか紹介すると共に今後の展望について述べる。



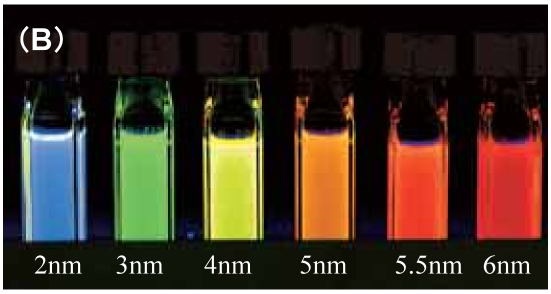


図 1　CdSe 量子ドットの蛍光スペクトル(A)と量子ドットが発する蛍光(B)
サイズが小さい（2 nm）と青色の蛍光を発し、サイズが大きくなるに従い 3 nm では緑色、4 nm では黄色、5 nm では赤色の蛍光を発するようになる。

2. 量子ドットを用いた *in vitro* バイオイメージング

細胞膜を構成する重要な生体分子である糖タンパク質や糖脂質は糖鎖と呼ばれる分子がその末端に化学的に結合している。そのために細胞接着に加え、細胞の外部からの情報を細胞の内部に伝えるレセプター分子やアンテナ分子として生命活動において重要な役割を担っている。糖鎖の構造は細胞の種類によって異なり、細胞が分化したり、がん化によって変異したりした場合にも変化することが知られている。この糖鎖の構造の違いを厳密に識別して、結合するタンパク質がレクチンである[7,8)]。レクチンは植物の種子や動物の組織からこれまでに数多く見出され、その多くは構造も明らかにされている。また、結合する糖鎖の構造や種類によっていくつかのグループにも分類されている。我々は量子ドットとレクチンを用いた細胞標識技術の開発を目的として、まず白血病細胞のみを凝集するレクチンのスクリーニングを行った。その結果、大豆凝集素（soybean agglutinin、以下、SBA）が白血病細胞のみを特異的に凝集することを見出した。次に紫外線を照射した場合に緑色の蛍光を発する量子ドット（サイズは 3 nm）をジメルカプトコハク酸で表面修飾することにより、表面をカルボキシル基で覆われた水溶性溶媒に対して優れた分散能を持つ量子ドット（以下、QD）を調製することに成功した。この両者を 1-エチル-3-(3- ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩を用いた脱水縮合反応により、SBA の周りに QD が結合した QD 標識 SBA（以下、QD-SBA）を調製した。この QD-SBA を Jurkat と呼ばれる株化白血病細胞の培養液中に添加して培養した後、蛍光顕微鏡で観察したところ、Jurkat 細胞が鮮やかな緑色の蛍光を発していた（図 2(A)）。一方、同様の操作を健常な人から採取した白血球細胞で行った場合には緑色の蛍光は全く観察されなかった（図 2(B)）。これらの結果はレクチンの分子認識機能、すなわち、SBA が白血病細胞だけに存在する細胞表面の糖鎖を認識して結合するという分子認識機能を反映したものである[5)]。この技術を糖鎖に対する特異性の異なる別の種類のレクチンに応用することにより、他の様々な細胞についても変異や分化の様子を簡便に、そして正確に調べることも十分に可能であると考える。今回の実験では比較のために量子ドットに加えて、有機系の蛍光色素であるフルオロセインイソチオシアネート（以下、FITC）で蛍光標識した SBA と、正常な白血球細胞にも反応する小麦胚芽凝集素（以下、WGA）も用いた。まず、FITC-SBA では QD-SBA の場合と同様に緑色の蛍光を発する Jurkat 細胞は観察されたが、その蛍光の強さは QD-SBA に比べて非常に低いことが分かった（図 2(C)）。一方、QD-WGA は正常な白血球細胞にも反応するため、白血球細胞は緑色の蛍光を発していた。また、QD-SBA を Jurkat 細胞に添加して 6 時間経過すると、Jurkat 細胞内の蛍光量が増加している様子が観察された（図 3(A)）。これは量子ドットを用いることにより、SBA のようなレクチン質分子が細胞質内に取り込まれていく様子を高感度にリアルタイムで観察することも可能であることを示唆している。さらに長時間培養すると、凝集した細胞やアポトーシス様の細胞死が誘導された細胞などを観察することもできた（図 3(B)）。量子ドットで標識したレクチンを用いてグラム陰性菌を検出した例もいくつか報告されている[9,10)] ので、引用文献を参照して頂ければと思う。

3. 量子ドットを用いた *in vivo* バイオイメージング

現在、がんの性質（悪性度）診断や転移、再発巣の診断として有用性が高い検査手法として広く汎用されているのが、ポジトロン CT（以下、PET）である。PET はグルコースに目印となるポジトロン核種を合成した薬剤、放射性ブドウ糖擬似物質 F-18-

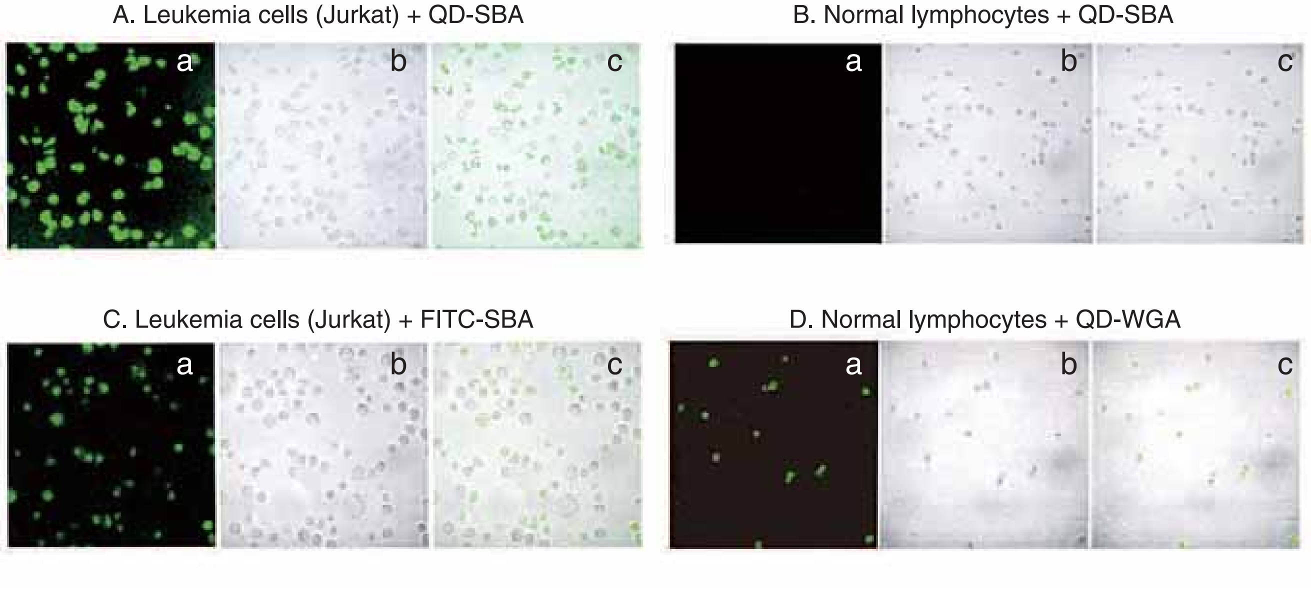


図 2　量子ドットを用いた白血病細胞イメージング技術
A：Jurkat 細胞に QD-SBA を作用させたもの　B：正常白血球細胞に QD-SBA を作用させたもの　C：Jurkat 細胞に FITC-SBA を作用させたもの
D：正常白血球細胞に QD-WGA を作用させたもの　いずれも、a：蛍光画像、b：透過画像、c：蛍光画像と透過画像

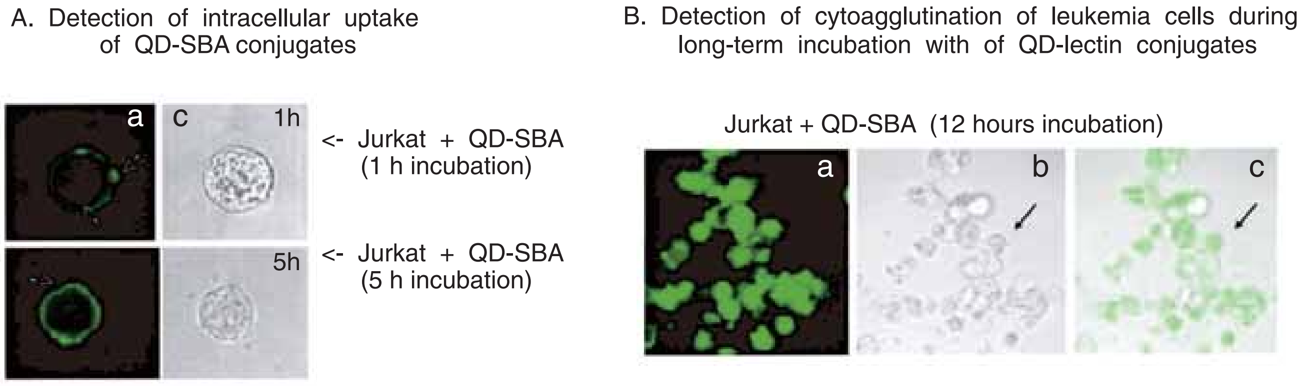


図 3　量子ドットを用いた白血病細胞イメージング技術
A：QD-SBA が細胞内への取り込まれていく様子を検出　　B：QD-SBA による細胞凝集の様子（←）を示す

fluoro-deoxy-glucose、を被験者に静注し、一定時間後にその体内分布を特殊なカメラで映像化する診断法である。最近では単なるがんの診断法としてだけではなく、薬物の体内動態や組織のエネルギー代謝を調べる技術としても応用されており[11]、その有用性が高く評価されている。しかし、検査には放射性物質を使うことから、放射線被爆が大きな問題となっている。この点において、光は非侵襲であり、かつ高感度であるため、病気の診断に応用できる可能性がある。はじめに述べたように高い蛍光強度と強い耐光性という特性を併せ持つ量子ドットを利用して、生体内でがん細胞や組織のイメージングを行う試みは既に始まっている。代表的な例としては量子ドットで蛍光標識した前立腺特異的膜抗原に対する抗体をマウス尻尾の静脈に注射し、一定時間経過した後に紫外線を照射することにより、前立腺がんを検出した報告[12]がある。また、転移性乳がんの抗がん剤である抗 HER2 モノクローナル抗体を量子ドットで標識化したものを、HER2 発現乳がんを埋め込み腫瘍に成長させたマウスの尻尾の静脈に注射後、腫瘍内に集積した量子ドットを追跡することに成功したことも報告されている[13]。生体の場合は呼吸や血流に伴った振動や生体内からの自家蛍光に起因して蛍光シグナルが低下する可能性がある。しかし、量子ドットの中には近赤外部の波長領域まで蛍光を有するものも開発されているため、これを利用すれば皮膚や組織の自家蛍光と区別するのが容易となる。加えて、一励起波長で同時多色観察ができるため、工夫すれば数種類のがんの診断を同時に行うことも可能になると考える。今後、このような基礎的な研究データが蓄積されると共に、量子ドットそのものの体内動態や毒性等の問題が解決されれば、量子ドットを使った診断技術が近い将来 PET の代替法として実用化される可能性も充分にあると考える。

4. まとめ

生体内では日夜様々な生体分子が機能している。これらの個々の生体分子の役割を機能している“その場”で、精度良く、そして客観的に明らかにすることは生命科学研究の大きな目標のひとつである。

非侵襲の光を用いて生体内で機能する分子を上手くイメージングできれば、細胞を破砕した状態では決して得ることができない、生きた状態での分子動態を明らかにすることができる。このような目標を達成させるための次世代の蛍光材料として量子ドットがいかに最適なものであるかについて今回紹介した。

量子ドットには、1）Cd のような毒性の高い成分元素が含まれているために生体適合性や環境安全性の点で問題がある、2）照射する励起光が紫外・可視領域であるために照射条件によっては生体物質がダメージを受けてしまう可能性がある、などのまだまだ解決すべき課題が残っている。しかし、コア量子ドットの毒性を低減できる水油親和性ポリアクリル酸ポリマーなどの優れた表面被覆剤も開発されつつある。また、波長にして 1 - 2 μm と生体においてはほとんど吸収のない波長域である近赤外を励起光として用いた蛍光バイオイメージングも提案され始めている[14,15]。このようなことから、近い将来より生体毒性の低い、そして安定な高輝度水溶性量子ドットが開発され、量子ドットがこの分野での優れた研究ツールとしてさらに発展するものと確信している。

［参考文献］

1） R. Bakalova, Z. Zhelev, H. Ohba, and Y. Baba, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005,** *127* (32), 11328.
2） R. Bakalova, Z. Zhelev, H. Ohba, and Y. Baba, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127* (26), 9328.
3） R. Bakalova, Z. Zhelev, H. Ohba, M. Ishikawa, and Y. Baba, *Nature Biotechnol.*, **2004**, *22* (11), 1360.
4） R. Bakalova, H. Ohba, Z. Zhelev, M. Ishikawa, and Y. Baba, *Nano Lett.*, **2004**, *4* (9), 1567.
5） Z. Zhelev, H. Ohba, R. Bakalova, R. Jose, S. Fukuoka, T. Nagase, M. Ishikawa, and Y. Baba, *Chem. Commun.*（*Camb.*）, **2005**, *15*, 1980.
6） R. Bakaliva, Z. Zhelev, R. Jose, H. Ohba, M. Ishikawa, and Y. Baba, *J. Nanosci. Nanotechno*, **2005**, *5* (6), 887.
7） N. Sharon and H. Lis、「レクチン」学会出版センター 大沢 利昭、小浪 悠紀子訳
8） 小浪 悠紀子「糖鎖」・糖鎖の分子設計、東京化学同人「植物レクチンはどのように糖鎖を識別するか」
9） J. A. Kloepfer, N. Cohen, and J. L. Nadeau, *J. Phys. Chem.*, **2004**, *B 108* (44), 17042.

10) S. Dwarakanath, J. G. Bruno, A. Shastrv, T. Phillips, A. A. John, A. Kumar, and L. D. Stephenson, *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **2004**, *325* (3), 739.
11) M. Tatsumi, H. Sugahara, I. Higuchi, H. Fukunaga, H. Nakamura, Y. Kanakura, and J. Hatazawa, *Int. J. Clin. Oncol*., **2009**, *14* (2), 150.
12) X. H. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. Chung, and S. Nie, *Nature Biotechnol*., **2004**, *22* (11), 969.
13) H. Tada, H. Higuchi, T. M. Watanabe, and N. Ohuchi, *Cancer Res*., **2007**, *67*, 1138.
14) H. Zhang, Z. Zhou, B. Yang, and M. Gao, *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 8.
15) R. E. Baily and S. Nie, *J. Am. Chem. Soc*., **2003**, *125* (23), 7100.

筆者プロフィール

氏　名：大庭　英樹（Hideki Ooba）
年　齢：49 歳
所　属：独立行政法人産業技術総合研究所・生産計測技術研究センター　主任研究員
住　所：〒 841-0052　佐賀県鳥栖市宿町 807-1
Tel: 0942-81-3629　Fax: 0942-81-4089
E-mail: h.ooba@aist.go.jp
略　歴：
1986 年　九州大学農学部農芸化学科卒業
1988 年　同大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程修了
1991 年　同大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士後期課程修了、農学博士
1991 ～ 2001 年　工業技術院勤務
2001 年から産業技術総合研究所勤務、現在に至る
2009 年 4 月から昭和大学薬学部客員教授
研究内容：
「分子認識機能の医学・生物学分野への応用」を主要研究テーマとして、主に「レクチンを用いた細胞分離技術の開発」、「白血病細胞死滅効果を示す生理活性物質の探索」、及び「オリゴ DNA/RNA の細胞内デリバリー技術とアンチセンス効果」、などの研究に従事してきた。2004 年からは次世代の蛍光標識剤として期待されている量子ドットに興味を持ち、「蛍光性量子ドットの合成、表面修飾、及び生化学的応用」に専念すると共に、2007 年からは株式会社ケアア･フォー（産総研技術移転認定ベンチャー 47 号）の主任研究員として、量子ドットの実用化研究にも取り組んでいる。

試作品

近赤外蛍光色素標識試薬

ICG-maleimide

ICG（Indocyanine Green）は肝機能検査のための色素負荷試験にも用いられているシアニン色素で、近赤外領域に蛍光を持ちます。励起波長は 774 nm 付近、蛍光波長は 805 nm 付近であり、生体内で用いた場合でも、ヘモグロビンなどによる妨害を受けにくいという蛍光特性を有しています。小社では、抗体やタンパク質のアミノ基を介して ICG を標識するためのキット ICG Labeling Kit - NH_2 を販売しておりますが、この度、スルフヒドリル（SH）基標識用として ICG のマレイミドタイプを開発いたしました。本試薬は、その構造内にマレイミド基を有しているため、SH 基を介して部位特異的に ICG を標識することができます。
本試薬は、近赤外蛍光を用いた *in vivo* イメージングへの応用が期待できます。

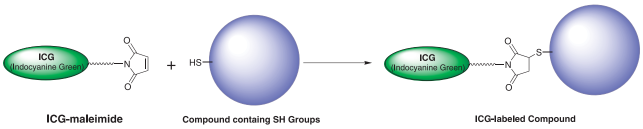


Fig. 1 ICG-maleimide の構造

［参考文献］
1) M. Ogawa, C. A. S. Regino, J. Seidel, M. V. Green, W. Xi, M. Williams, N. Kosaka, P. L. Choyke and H. Kobayashi, Dual-Modality Molecular Imaging Using Antibodies Labeled with Activatable Fluorescence and a Radionuclide for Specific and Quantitative Targeted Cancer Detection, *Bioconjugate Chem.*, **2009**, *20* (11), 2177.
2) M. Ogawa, N. Kosaka, P. L. Choyke and H. Kobayashi, *In vivo* Molecular Imaging of Cancer with a Quenching Near-Infrared Fluorescent Probe Using Conjuates of Monoclonal Antibodies and Indocyanine Green, *Cancer Res.*, **2009**, *69* (4), 1268.
3) N. Kosaka, M. Ogawa, P. L. Choyke and H. Kobayashi, Clinical implications of near-infrared fluorescence imaging in cancer, *Future Oncology*, **2009**, *5* (9), 1501.

Topics on Chemistry

フタロシアニン誘導体を用いた混合バルクヘテロ接合型有機薄膜太陽電池の作製

株式会社同仁化学研究所　緒方　秀樹

　クリーンで尽きることのない太陽エネルギーを利用する太陽光発電は、地球温暖化の防止および石油資源の代替エネルギー源として大きな期待が寄せられている。

　現在普及しているシリコン系太陽電池の発電コストは、他の発電法と比較すると割高であり、太陽光発電のさらなる普及のためには太陽電池の低コスト化が不可欠である。

　その解決策の一つとして、有機薄膜太陽電池が挙げられる。従来のシリコン系の太陽電池が製造に高温、高真空を必要とするのに対し、有機薄膜太陽電池は導電性ポリマーを材料とすることで溶液塗布による印刷製造プロセスを導入することができ、大幅な低コスト化が期待できる。また、薄い、軽い、曲げられるといった特徴を持つため、加工性にも優れている。しかしながら有機薄膜太陽電池は変換効率の低さが大きな課題となっている。

　一般的な太陽電池は、p 型半導体（プラスの電荷を持つ「正孔」（ホール）が電流を伝える役割を担う半導体）と n 型半導体（マイナスの電荷を持つ伝導電子が電流を伝える役割を担う半導体）を接合した構造（Fig.1-1）を持ち、光の照射によって pn 接合界面で生じる光起電力効果を利用している。有機薄膜太陽電池では、発生した励起子移動可能距離が数 nm と 非常に短いため pn 接合部分のわずか数十 nm 程度しか光電変換層としては機能せず、光の利用効率が悪い。そこで、p 型と n 型の有機半導体を混合した活性層を導入することによって光電変換層の厚みを増大させた混合バルク接合型（Fig.1-2）が有機薄膜太陽電池の基本構造となっている。

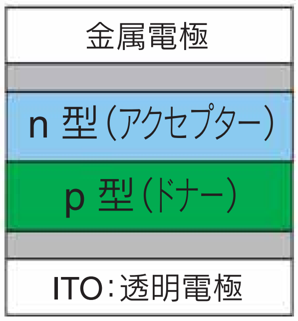


Fig.1-1　pn 接合型

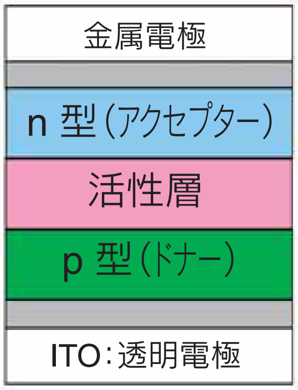


Fig.1-2　混合バルク接合型

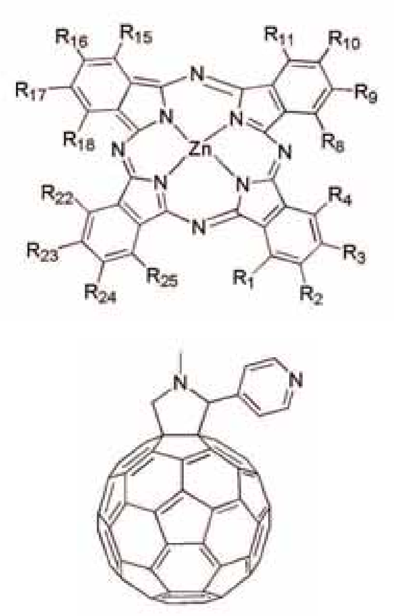
　有機薄膜太陽電池に用いることができる代表的な有機半導体には、p 型半導体としてフタロシアニン（Pc）及びその誘導体がある。フタロシアニンは耐久性に優れ、製膜することにより半導体特性を示す。さらに導入する置換基によって最高被占分子軌道（HOMO）、最低空分子軌道（LUMO）のエネルギー位置関係が変化することで光学バンドギャップをコントロールできる。よって種々の誘導体の合成が容易である。

　一方でフタロシアニンは有機溶剤への溶解性が低く、真空蒸着のプロセスを必要とすること、赤外及び紫外領域波長で狭い吸収帯しか持たないため光の利用効率が悪いなどの問題から低コスト太陽電池の材料としてそのまま使用することは困難である。

　そこで、Varotto らは、これらの問題を解決するために、フタロシアニンに比べて、以下の性質にて優れる誘導体を合成・評価した。

(1) 有機媒体に溶解し易いこと。
(2) 長波長の光を吸収できること。
(3) 光学バンドギャップの異なる誘導体を組み合わせて混合できること。

　ここでは、Varotto らが作製したヘキサデカフルオロ亜鉛（ II ）フタロシアニン（ZuPcF16）のフッ素の一部を、アルカンチオールで置換した誘導体類を用いたバルクヘテロ接合型太陽電池について紹介する（Fig. 2）[1)]。



Pc677: R_2 or R_3 + R_9 or R_{10} + R_{16} or R_{17} + R_{23} or R_{24} = *tert*-butyl、その他の Rn = H、
Pc707: R_2 or R_3 + R_9 or R_{10} + R_{16} or R_{17} + R_{23} or R_{24} = $CH_3(CH_2)_{11}S$、その他の Rn = F、
Pc735: R_2 = R_3 = R_9 = R_{10} = R_{16} = R_{17} = R_{23} = R_{24} = $CH_3(CH_2)_{11}S$、その他の Rn = F。

Fig. 2　フタロシアニン誘導体およびフラーレン誘導体

　ZnPcF16 のフッ素をアルカンチオールに置換することで HOMO が不安定化され、光学バンドギャップエネルギーはアルカンチオールの置換数の増加に応じて 1.83 eV から 1.58 eV まで一定の割合で減少した。今回得られたフタロシアニン誘導体の極大吸収波長は最大 677 nm から 735 nm と近赤外領域までシフトした。

　この結果から、置換基の数によって異なる極大吸収波長を持つフタロシアニン誘導体の設計が可能であることが明らかになった。この極大吸収波長の異なる 3 種類の混合フタロシアニン誘導体とフラーレン誘導体をインジウム、スズ酸化物（ITO）透明電極上に 3,4- エチレンジオキシチオフェン／ポリ 4-スチレンスルホネート（PEDOT/PSS）をスピンコートした陽極とフラーレン、Al 陰極との間にスピンコートしバルクヘテロ接合有機薄膜太陽電

池を作製した。

フタロシアニン誘導体を混合して塗布すると、フタロシアニン分子間のπ－π相互作用によってフタロシアニン誘導体が自己組織化して積層することが確認され、実際に原子間力顕微鏡で測定した結果約 70 nm の厚みをもつ活性層を確認することができた [2)]。

Table 1　AM 1.5 G で評価した太陽電池特性評価結果

	Pc677	Pc707	Pc735	blend
η_p（%）	0.026	0.012	0.033	0.12
J_{SC}（mA/cm^2）	0.26	0.14	0.35	1.24
V_{OC}（V）	0.351	0.375	0.305	0.408
FF	0.29	0.23	0.3	0.24

作製した太陽電池を、AM 1.5 G（変換効率を求める際に用いられる、太陽光を模した標準的な光源から出る光のスペクトルの呼称）の擬似太陽光照射下で太陽電池の特性を評価した（Table 1）。フタロシアニン誘導体混合系と単一系で比較すると、混合系の太陽電池の発電効率に関与する短絡電流（J_{SC}）は 3 倍以上大きく、変換効率（η_p）は単一系より 4 倍に向上した。変換効率が向上した理由としては、異なる光学バンドギャップを持つフタロシアニン誘導体を混合することにより、太陽光の利用効率が向上したためである。さらにフタロシアニン誘導体が自己組織化して積層することにより、活性層でのドナーであるフタロシアニン誘導体とアクセプターであるフラーレン誘導体が並列し、発生した励起子が効率良く電極へ移動できるようになったためである。よって短絡電流（J_{SC}）および開放電圧（V_{OC}）の増加につながり変換効率を向上させたと考えられる。

以上のことから、目的(1)については、フタロシアニンにアルカンチオールを置換基として導入することにより溶解性が向上し、溶液塗布による太陽電池作製が可能となった。(2)については、アルカンチオールの置換数により光学バンドギャップが変化し、3 種の誘導体を混合して使用することが可能であったため、塗布することで、活性層の自己組織化によりドナーとアクセプターが並列し、変換効率が上昇した。

有機薄膜太陽電池の一番の利点は低コスト化が可能であるということであり、今回紹介した溶液塗布などの簡易なプロセスでデバイスを作製できることは非常に魅力的である。しかしながら、現在普及しているシリコン太陽電池と比較すると変換効率はまだまだ低く、実用化の目安である変換効率10%以上へ向け新たな素材の開発など研究の発展が望まれる。

［参考文献］

1）A. Varotto, C. Y. Nam, I. Radivojevic, P. C. T. Joao, J. A. S. Cavaleiro, C. T. Black, C. M. Drain, *J. Am. Chem. Soc*., **2010**, *132* (8), 2552.

2）G. Torre, C. G. Claessens, T. Torres, *Chem. Commun.*, **2007**, 2000.

関連製品

機能性有機材料

Bathocuproine, sublimed

Bathocuproine（BCP）は有機 EL 素子の電子輸送層やホールブロッキング層として用いられる他、有機薄膜太陽電池のバッファー層としても利用されています。

有機薄膜太陽電池などの有機電子デバイスでは、有機／金属界面の電子状態がその動作特性に大きな影響を及ぼすことが知られており、界面特性を改善するためにバッファー層が挿入されます。中でも BCP は代表的なバッファー層であり、金属電極における励起子失活過程の抑制や I-V 特性を改善する効果があると報告されています [1,2)]。

小社の Bathocuproine, sublimed は昇華精製したものであり、有機電子デバイスでの利用に適しています。

［参考文献］

1) P. Peumans *et al*, *Appl. Phys. Lett.*, **2000**, *76*, 2650.

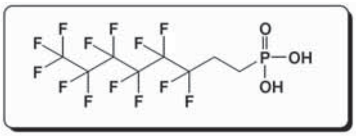
2) T. Taima *et al*, *Appl. Phys. Lett.*, **2004**, *85*, 6412.

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Bathocuproine, sublimed	1 g	40,200	B446

開発中

表面処理用ホスホン酸誘導体

FOPA　1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-Perfluorooctyl phosphonic acid



ホスホン酸誘導体は酸化アルミニウムや ITO 等の金属酸化物の表面処理・改質剤として、近年、注目されています。

Klauk ら [1)] や Someya ら [2)] は、アルキルホスホン酸を有機トランジスタの絶縁膜として使用しています。また、Traina らはオリゴエチレングリコール部位を有するアルキルホスホン酸で酸化イットリウム微粒子を修飾し、水溶化することに成功しています [3)]。

最近、Sharma らは ITO 基板をパーフルオロアルキル基を有するホスホン酸（FOPA）で修飾することにより、酸素プラズマ処理と同様に、ITO 基板の仕事関数が増大することを報告しています。

酸素プラズマ処理によって増加した仕事関数は直ぐに低下しますが、FOPA 修飾により増加した仕事関数は安定性が高く、246 時間後も低下しないことが示されています [4)]。

FOPA は上記のような ITO 修飾以外にも、種々の金属酸化物表面の撥水処理への応用が期待されます。

［参考文献］

1) H. Klauk, U. Zschieschang, J. Pflaum, M. Halik, *Nature*, **2007**, *445*, 745.

2) T. Someya, T. Sekitani, Y. Noguchi, U. Zschieschang, H. Klauk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, *105*, 4976.

3) C. A. Traina, A. Christopher, J. Schwartz, *Langmuir*, **2007**, *23*(18), 9158.

4) A. Sharma, B. Kippelen, P. J. Hotchkiss and S. R. Marder, *Appl. Phys. Lett.*, **2008**, *93*, 163308.

製品紹介

開発元 DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

二次元電気泳動用タンパク質溶解剤　SpotRight™ シリーズ

＜特長＞

・難溶性タンパク質の溶解性能を向上
・変性剤･還元剤･界面活性剤は１ボトルに含まれ、秤量・混合は不要
・溶液調製はセットに含まれるバッファーを加えるだけ＊試薬の溶解性も向上し、煩わしさを解消

二次元電気泳動法は、タンパク質の網羅的解析法の一つとして欠かせない技術となっています。しかしながら、膜タンパク質に代表される疎水性タンパク質は、その溶解性の低さから二次元電気泳動での解析が困難とされています。SpotRight™ は、これらのタンパク質の溶解性能を向上させたタンパク質溶解剤です。タンパク質の溶解に必要な変性剤・界面活性剤・還元剤はプレミックスされています。溶解液の調製は、各 SpotRight™ の Reagent に、セットに含まれるバッファーを加えるだけです*。SpotRight™ を用いて溶解したタンパク質のサンプル溶液は、等電点電気泳動および二次元電気泳動に使用できます。SpotRight™-Trial は、界面活性剤の種類が異なる 4 つの試薬とバッファーで構成され、Reagent- I には電気泳動用のタンパク質溶解剤に汎用されている CHAPS が、Reagent- II, - III, - IV にはタンパク質の溶解性能を向上した界面活性剤が含まれています。

＊キャリアアンフォライトは別途添加していただく必要があります。

＜測定例 1 ＞

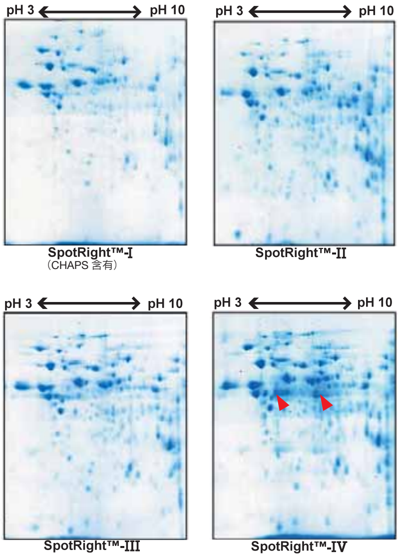


Fig. 1　市販ミクロソームを用いた二次元電気泳動

市販のラット肝臓ミクロソーム（タンパク量：200 μg）にアセトン 1 ml を加えて混合し、遠心（15,000 ×*g*、4℃、10 分間）後に上清を除去した。遠心後の沈殿物に予めキャリアアンフォライトを加えた SpotRight 溶解液 200 μl を添加して、ボルテックス後、超音波にて溶解した。この溶解液を遠心した後、上清を二次元電気泳動用サンプルとして泳動後、CBB 染色した。Reagent- I (CHAPS) と比較して、Reagent- II, - III では塩基性タンパク質が多く検出され、また、Reagent-IV では Reagent- I, - II, - III で確認されないスポットが検出された（図中矢印）。

＜測定例 2 ＞

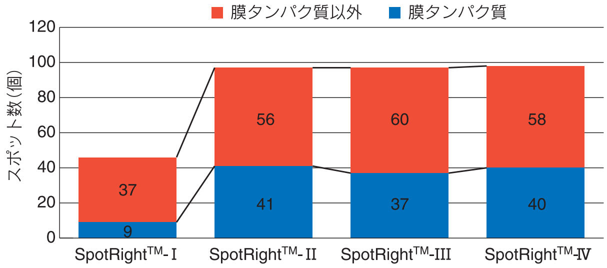


Fig. 2　タンパク質同定結果

測定例 1 において泳動したゲルより任意に選び出した各ゲルの 108 スポットの内、MS 解析でタンパク質が同定されたスポット数を膜タンパク質とそれ以外で分けた。SpotRight™- I に比べ、SpotRight™- II, - III, - IV ではより多くの膜タンパク質が可溶化され、同定された。

〈Q&A〉

Q1：Reagent 1 ボトルでゲル何枚分、使用できますか？

A1：指定量の Reconstitution Buffer に溶解していただくと、1.1 ml となります。電気泳動用のサンプル添加量は、ゲルサイズや染色方法によって異なりますので、ご使用のサンプル添加量で算出して下さい。
例）ゲルサイズ 7 cm、サンプル添加量 125 μl
1.1 ml / 0.125 ml = 約 8 枚分
※ SpotRight™- Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ には、それぞれ Reagent が 10 本ずつ含まれます。
※カップローディング法の場合は、サンプル添加用とゲル膨潤用が必要となる為、使用可能なゲルの枚数は少なくなります。

Q2：Reagent- Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳはどう使い分ければよいのでしょうか？

A2：SpotRight™ は、界面活性剤の種類によって、4 つのタイプをご用意しております。
Reagent- Ⅰ には電気泳動用のタンパク質溶解剤に汎用されている CHAPS、Reagent- Ⅱ, Ⅲ, Ⅳにはタンパク質の溶解性能を向上した非イオン性の界面活性剤が含まれております。ラット肝臓ミクロゾームをサンプルとした場合、Ⅰと比較して、Ⅱ, Ⅲ, Ⅳでは溶解性が向上し、塩基性タンパク質のスポット数が増加しています。
まずは、Ⅰ～Ⅳの全てのタイプが入った SpotRight™-Trial（メーカーコード：S351）でお試しいただき、目的のタンパク質に合ったタイプをご選択下さい。

Q3：変性剤、還元剤、アルキル化剤は含まれていますか？

A3：以下の試薬が含まれます。
変性剤：Urea, Thiourea、還元剤：DTT、アルキル化剤：含んでいません

Q4：SpotRight™ 溶解液は、保存可能ですか？

A4：キャリアアンフォライトやブロモフェノールブルーを添加しない状態であれば、－20℃で 1 ヶ月安定であることを確認しています。キャリアアンフォライトやブロモフェノールブルーを添加した状態では、保存しないで下さい。また、－20℃で保存した溶解液は、凍結融解を繰り返さないで下さい。

〈市販ミクロソームを用いて SpotRight™ で可溶化されたタンパク質（一部抜粋）〉

※その他の情報は、小社 HP に掲載中。http://www.dojindo.co.jp/
「SpotRight」で検索してください。

試薬ごとの溶解能　-；同定できず　+, ++, +++；同定可能

	Accession Number	Protein Name	Molecular Weight	pI	Reagent- I	Reagent- II	Reagent- III	Reagent- IV
膜タンパク質（貫通型 マルチタイプ）	P97521	Mitochondrial carnitine/ acylcarnitine carrier protein	33474	9.55	−	+	−	+
	Q02769	Squalene synthase	48703	6.61	−	+	+	+
膜タンパク質（貫通型 シングルタイプ）	P27364	3*β*-hydroxysteroid dehydrogenase type 5	42465	8.53	−	+	++	++
	P07687	Epoxide hydrolase 1	52719	8.59	−	+++	++	+++
膜タンパク質	Q8VHE9	All-trans-retinol 13,14-reductase	68001	8.92	−	++	−	+
	P10719	ATP synthase subunit *β*, mitochondrial	56318	4.95	−	++	++	++
ミトコンドリア	P13437	3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial	42244	8.09	+	++	++	++
	P29147	D-*β*-hydroxybutyrate dehydrogenase, mitochondrial	38576	8.6	+++	+++	+++	+++
サイトゾル	P62909	40S ribosomal protein S3	26828	9.68	−	+	+	+
	P06757	Alcohol dehydrogenase 1	40532	8.52	+	+	+	+
	O09171	Betaine-homocysteine *S*-methyltransferase 1	45404	8.02	−	+	++	+
ペルオキシゾーム	Q63276	Bile acid-CoA: amino acid *N*-acyltransferase	46777	6.97	+	+	+	+
	P04762	Catalase	60062	7.15	++	++	++	++
小胞体	P06761	78 kDa glucose-regulated protein	72473	5.01	++	+++	+++	+++
	P16303	Carboxylesterase 3	62393	6	++	++	++	++
核	A7VJC2	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	37512	8.97	−	−	+	+

サンプル：市販ミクロソーム

<セット内容>

SpotRight™-Trial
- Reagent - I　× 1
- Reagent - II　× 1
- Reagent - III　× 1
- Reagent - IV　× 1
- Reconstitution Buffer　5 ml × 1

SpotRight™ - I
- Reagent - I　× 10
- Reconstitution Buffer　5 ml × 2

SpotRight™ - II
- Reagent - II　× 10
- Reconstitution Buffer　5 ml × 2

SpotRight™ - III
- Reagent - III　× 10
- Reconstitution Buffer　5 ml × 2

SpotRight™ - IV
- Reagent - IV　× 10
- Reconstitution Buffer　5 ml × 2

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
SpotRight™-Trial	1 set	15,000	S351
SpotRight™- I	1 ml × 10	25,000	S352
SpotRight™- II	1 ml × 10	25,000	S353
SpotRight™- III	1 ml × 10	25,000	S354
SpotRight™- IV	1 ml × 10	25,000	S355

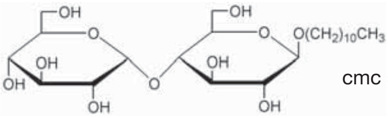
新製品

膜タンパク質可溶化剤

n -Undecyl-*β*-D-maltoside

目的とするタンパク質を可溶化する場合、タンパク質との相性の良い界面活性剤は予測しがたく、最初にいくつかの界面活性剤を試してみることが必要です。また、同じ糖を親水部に持つものでもアルキル鎖長のわずかな違いでタンパク質の結晶化や安定性が異なる場合があります。現在、親水部にマルトースを持つ界面活性剤として *n*-Decyl-*β*-D-maltoside（アルキル鎖長＝ 10）、*n*-Dodecyl-*β*-D-maltoside（アルキル鎖長＝ 12）を既に販売しておりますが、お客様のご要望によりアルキル鎖長の異なる *n*-Undecyl-*β*-D-maltoside（アルキル鎖長＝ 11）を新製品として発売致します。小社の *n*-Undecyl-*β*-D-maltoside は α 体含量を 0.1% 以下に抑えた高純度品（純度:99.5% 以上）です。Christain Lange らは、*n*-Undecyl-*β*-D-maltoside を用いて出芽酵母の一種 *Saccharomyces cerevisiae* 由来の cytochrome bc_1 複合体の結晶化を行い、2.3 Å の解像度で解析を行っています[1]。

n-Decyl-*β*-D-maltoside、*n*-Undecyl-*β*-D-maltoside 及び *n*-Dodecyl-*β*-D-maltoside の各 cmc 値は 1.8、0.55、0.17 mmol/l と異なり、それぞれ特徴ある性質を持つと期待されます。



cmc = 0.55 mmol/l

［参考文献］
1) C. Lange, J.H. Nett, B.L. Trumpower and C. Hunte,“Specific roles of protein-phospholipid interactions in the yeast cytochrome bc_1 complex structure”, *EMBO J.*, **2001**, *20*, 6591.

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
n-Undecyl-*β*-D-maltoside			
	1 g	23,000	U214
	5 g	91,000	

〈その他 Maltoside 関連製品〉

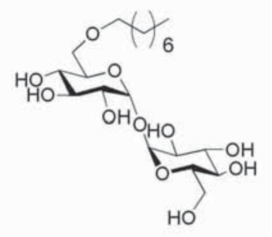
品名	容量	希望納入価格(¥)	コード	メーカーコード
n-Octyl-*β*-D-maltoside				
	500 mg	30,000	−	O393
n-Decyl-*β*-D-maltoside				
	1 g	13,400	349-08041	D382
	5 g	54,000	345-08043	
n-Dodecyl-*β*-D-maltoside				
	1 g	13,400	341-06161	D316
	5 g	54,000	347-06163	
n-Nonyl-*β*-D-thiomaltoside				
	1 g	15,600	343-06861	N373

試作品

新規デタージェント

Trehalose エーテル型

トレハロースは、グルコースが 1,1- グリコシド結合している二糖類の一種であり、タンパク質の変性防止や食品の乾燥・凍結に対する保護など他の糖には見られない特異な性質を持っていることが知られております。現在開発中のトレハロースデタージェントは、エーテル結合で親油基と結合しているため広い pH 領域で水溶液安定性が高く、トレハロースを基本骨格としていることから特異な性質を有することが期待されます。



cmc = 6.3 mmol/l

関連製品

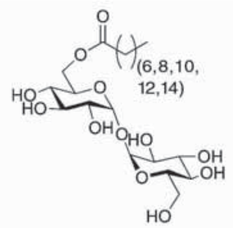
新規デタージェント

Trehalose エステル型

Trehalose C8、Trehalose C10、Trehalose C12、Trehalose C14、Trehalose C16 は、親水基がトレハロース、親油基が直鎖脂肪酸エステルで構成される、新しいタイプの非イオン性界面活性剤です。

トレハロースは、非還元性の糖であり、天然に存在します。トレハロースを添加することにより、タンパク質や脂質の変性を抑制することから、食品・菓子原料に幅広く利用されています。それはトレハロースが細胞中で水に代わる働きを有し、細胞から水が失われた場合でもそのダメージを抑制するためです。

このように、他の糖にはない性質をもつトレハロースを基本骨格としたトレハロース型デタージェントは、特異な性質を有することが期待されます。



品名	cmc (mmol/l)
Trehalose C8	5.6
Trehalose C10	3.0
Trehalose C12	0.15
Trehalose C14	0.012
Trehalose C16	0.0061

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Trehalose C8	500 mg	20,000	T459
Trehalose C10	500 mg	20,000	T460
Trehalose C12	500 mg	20,000	T461
Trehalose C14	500 mg	20,000	T464
Trehalose C16	500 mg	20,000	T465

開発中

タンパク質質量分析用試薬

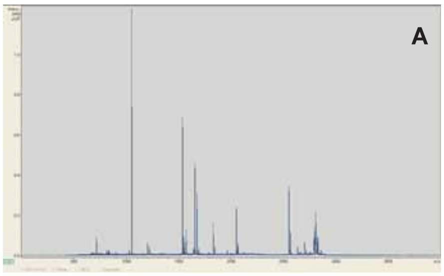
タンパク質消化試薬

＜特長＞
- タンパク質の消化効率が向上し、試料タンパク質由来のペプチド数が増加する。
- 酵素を含む試薬類はプレミックスされ、試料調製の必要がない。
- 試薬を溶解した後は、直ぐに消化反応に使用できる。

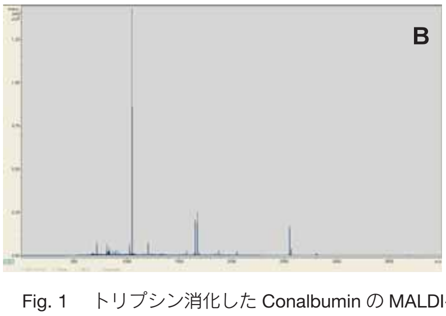
プロテオーム解析の手段として、二次元電気泳動法や液体クロマトグラフィーのタンパク質分離法とMALDI-TOF MSやESI-MSの質量分析計を組み合わせたシステムが利用されています。分離されたタンパク質は、トリプシンのような消化酵素でペプチド配列特異的に断片化され、各ペプチドを質量測定した後、データベース検索システムを用いて同定されます。発現したタンパク質は、リン酸化や糖化など様々な翻訳後修飾を受け、一種のタンパク質でさえも数種の状態を示すことから、膨大な数の試料を効率良く処理し、同定に繋げることが望まれています。本試薬は、タンパク質の消化を促進し、断片化ペプチド数が増えることで、MS解析後のタンパク質同定の確度を向上することができます。

＜使用例＞

SDS-PAGEで分離したConalbumin（100 μg）を本試薬によりゲル内消化（37℃，15時間）した後、MALDI-TOF MSにより質量分析を行い、データベースシステム（SWISS PROT）を用いて検索した（Fig. 1A)。同じトリプシンのみで消化した場合（Fig. 1B）と比較すると、試料タンパク質由来のペプチド数が増加し、ヒット数の向上が確認された。



A. 本試薬使用
同定スコア：200.8
マッチピーク数：13.3
シークエンスカバー率：31.5%



B. トリプシンのみで消化
同定スコア：112.4
マッチピーク数：9
シークエンスカバー率：16.2%

Fig. 1　トリプシン消化したConalbuminのMALDI-TOF MSスペクトル

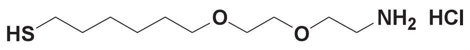
試作品

自己組織化単分子膜作製用試薬

アルカンチオール類

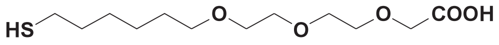
アルカンチオールやジスルフィド類が金属基板上で形成する自己組織化単分子膜（Self-Assembled Monolayers: SAMs）は光スイッチング・光電池などの薄膜光学材料、超微細フォトレジストなどのパターン化材料、つや出し・濡れ性などの表面改質といった機能性材料分野から、マイクロアレイ、化学修飾電極、QCMやSPR等を用いたバイオセンサーなどの分野で広く応用されています。

小社では様々な特性を有するチオールやジスルフィド類を販売しており、このたび、下記のようなオリゴエチレングリコール含有短鎖アルカンチオールを試作いたしました。化学修飾電極などへの応用が期待されます。



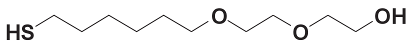
A514 : Amino-EG$_2$-hexanethiol, hydrochloride

グルタルアルデヒドで活性化してタンパク等を固定化できます。また、二価性試薬を用いてマレイミド化し、チオール基を有するDNAやペプチドなどを金属基板上に固定化する際にも有用です。



C486 : Carboxy-EG$_2$-hexanethiol

WSCなどの縮合剤で活性化することにより、アミノ基を有するタンパク等を金属基板上に固定化できます。



H397 : Hydroxy-EG$_2$-hexanethiol

カルボキシル基やアミノ基を有するアルカンチオールと混合して用いることにより、非特異的な吸着の抑制効果が期待できます。

試作品

開発元 *DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.*

高感度グルタチオン分別定量キット

Fluorometric GSSG/GSH Quantification Kit

＜特長＞

- 蛍光基質を用いた高感度蛍光検出
- 酸化型グルタチオン (GSSG)、還元型グルタチオン (GSH) の分別定量が可能
- 短時間で簡便に多検体の測定が可能

グルタチオン（L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycine）は生体内に存在するトリペプチドで、glutathione peroxidase、glutathione *S*-transferase および thioltransferase 等の酵素基質として抗酸化や薬物代謝などに関与しています。グルタチオンは通常、生体内では還元型として存在しています。しかし、酸化ストレスなどの刺激によって還元型グルタチオン（GSH）から酸化型グルタチオン（GSSG）に変換されるため、GSH と GSSG の比率が酸化ストレスの指標として注目されています。

この度、小社では GSH と GSSG を分別定量するためのキット GSSG/GSH Quantification Kit（品コード：G257）に加え、血漿などに含まれる低濃度の GSH と GSSG を分別定量できるキットを開発しました。

本キットにはグルタチオンを高感度に検出するための蛍光基質が含まれており、この蛍光基質（λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 535 nm）と酵素リサイクリング法（Fig. 1）を組み合わせることで低濃度域のグルタチオンを定量することができます（Fig. 2）。

また、キット付属のマスキング剤を使用することにより、還元型グルタチオン（GSH）と酸化型グルタチオン（GSSG）を分別定量することができます。

＜キット内容＞

・Enzyme solution	50 µl	× 1
・Coenzyme		× 2
・Buffer solution	60 ml	× 1
・Substrate		× 2
・Standard GSH		× 1
・Standard GSSG		× 1
・Masking reagent	20 µl	× 1
・Masking reagent quencher	5 ml	× 1
・Enhancer		× 2

＜血漿の GSSG 測定例＞

サンプルの前処理

1）血液 1 ml を 1,000 *x*g で 10 分間 4℃にて遠心する。
2）上清 300 µl を採り、それに 5% SSA 水溶液 150 µl を添加する。
3）8,000 *x*g で 10 分間 4℃にて遠心する。
4）得られた上清 300 µl に対し純水 300 µl を加え、2 倍希釈したものを測定試料とする。

酸化型グルタチオン（GSSG）の定量

1）測定試料および GSSG standard solution 200 µl に Masking reagent 4 µl を添加し混合する。各ウェルに 40 µl を添加する。
2）Buffer solution 100 µl を各ウェルに添加した後、37℃ で 1 時間インキュベートする。
3）Masking reagent quencher 20 µl を各ウェルに添加した後、37℃で 30 分間インキュベートする。
4）Substrate working solution 20 µl を各ウェルに添加した後、Coenzyme working solution および Enzyme working solution を 20 µl ずつ各ウェルに添加する。
5) 37℃で 30 分間インキュベートした後、Enhancer solution 20 µl を各ウェルに添加する。
6) マイクロプレートリーダーを用いて蛍光強度（λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 535 nm）を測定し、試料中の GSSG 濃度を検量線から求める。

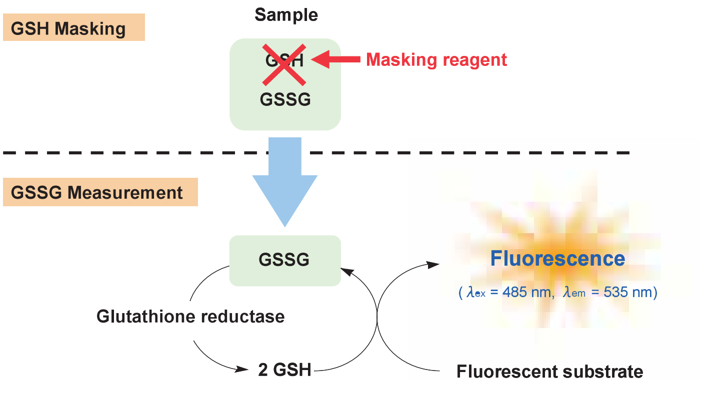


Fig. 1　酸化型グルタチオン（GSSG）定量の測定原理

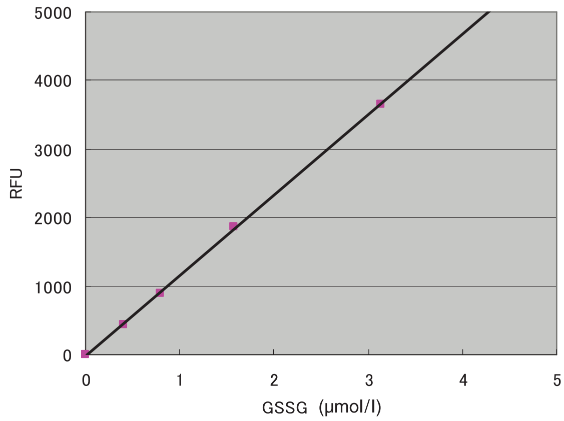


Fig. 2　酸化型グルタチオン（GSSG）定量の検量線

試作品

アセチルコリンエステラーゼ活性測定用キット

AChE-Specific Assay Kit

<特長>

- 新規の基質である MATP+ を使用
- 高選択的にアセチルコリンエステラーゼ活性を測定できる
- DTNB を用いた簡便な比色法
- アセチルコリンエステラーゼ阻害活性も測定できる

アセチルコリンエステラーゼ（AChE）は、神経伝達物質であるアセチルコリンを分解して神経伝達系をコントロールする重要な酵素の一つであり、脳や血中等に存在することが知られています。この酵素は有機リン系およびカルバメート系の農薬や殺虫剤などによって活性が低下することから、これらの薬物の曝露指標として用いられています。また、アルツハイマー病では神経障害によってアセチルコリン量が減少するため、AChE 阻害剤がアルツハイマー病治療薬として用いられています[1]。

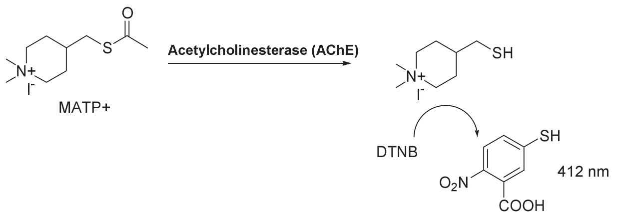


Fig. 1　アセチルコリンエステラーゼ活性測定法の原理

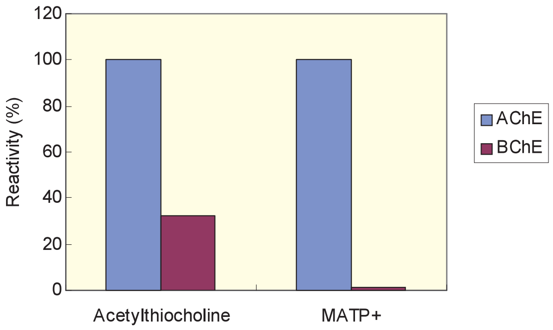


Fig. 2　Acetylthiocholine と MATP+ の BChE に対する AChE 選択性の比較
注）AChE に対する反応性を 100% とした場合の値を示す。

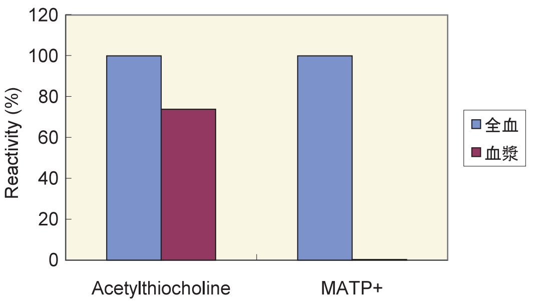


Fig. 3　全血および血漿の発色比較
注）全血サンプルの発色を 100%とした場合の血漿サンプルの発色比率を示す。

本キットは、AChE 活性を測定するためのキットです。キットには、新規基質である MATP+ が含まれており、一般的な基質であるアセチルチオコリンに比べ、高選択的に AChE 活性を測定することができます（Fig. 1, 2, 3）[2]。

検出には DTNB を用いた比色法を利用しています。キット付属の Standard AChE を用いることで、簡便に AChE 活性を求めることができます（Fig. 4）。また、これまで煩雑であったブチリルコリンエステラーゼ（BChE）阻害剤の添加や赤血球の単離を行うことなく、AChE 阻害活性を測定することも可能であり、農薬の検出や AChE 阻害物質のスクリーニングにも有用です（Fig. 5）。

＊ MATP+ は、独立行政法人 放射線医学総合研究所によって開発された新規のアセチルコリンエステラーゼ基質です。

<キット内容>

・MATP+	× 2 本	・Assay buffer 100 ml	× 1 本
・DTNB	× 2 本	・Standard AChE	× 1 本

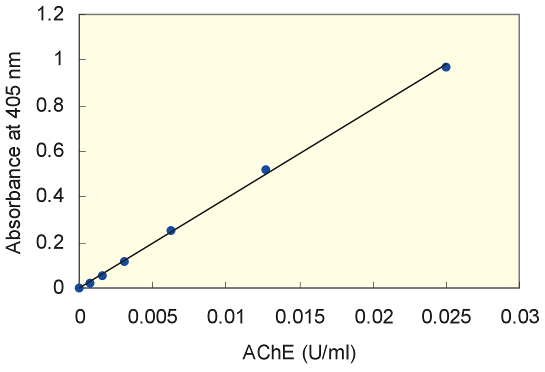


Fig. 4　Standard AChE で作成した検量線の例

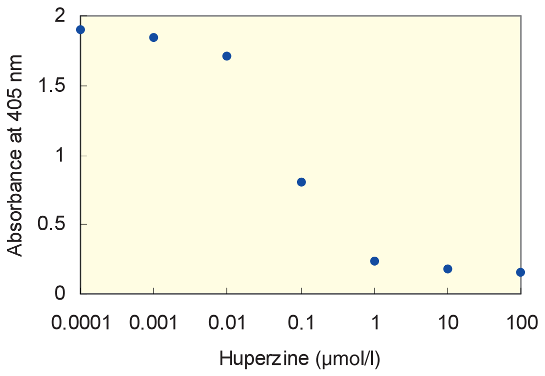


Fig. 5　AChE 阻害剤（Huperzine）を用いた阻害活性曲線の例

[参考文献]
1）T. Kikuchi, T. Okamura, K. Fukushi, and T. Irie, *Biol. Pharm. Bull.*, **2010**, *33*, 702.
2）杉本八郎，日薬理誌, **2004**, *124*, 163.

22nd Forum in DOJIN

22nd Forum in DOJIN フォーラム･イン･ドージン

RNAの識別と管理

―自己、異常な自己、そして非自己―

日時：2011年11月4日（金）9:30~16:50（開場 9:00）
場所：熊本ホテルキャッスル（熊本市城東町4-2）

代表世話人：山本　哲郎（熊本大学大学院生命科学研究部 分子病理学分野）
主催：株式会社 同仁化学研究所
後援：株式会社 ケミカル同仁

参加費:無料
定員:140名

●講演プログラム

9:30~9:35　主催者挨拶／野田 栄二（株式会社 同仁化学研究所）
9:35~9:45　世話人挨拶／三浦 洌（株式会社 同仁化学研究所）

Session 1:　〈座長：三浦 洌（株式会社 同仁化学研究所）〉

9:45~10:45　稲田 利文（東北大学大学院薬学研究科生命薬学専攻 教授）
「RNA プログラムの正確性を保証する品質管理機構の新展開」

10:45~11:30　大野 睦人（京都大学ウイルス研究所 遺伝子動態調節研究部門情報高分子化学研究分野 教授）
「RNA の核外輸送や品質管理におけるRNA識別」

Session 2:　〈座長：山本 哲郎（熊本大学大学院生命科学研究部 分子病理学分野）教授〉

11:30~12:15　吉久 徹（名古屋大学物質科学国際研究センター 准教授）
「細胞質スプライシング ― 細胞による例外の巧妙な利用 ―」

12:15~13:25　〈ランチブレイク:ランチョンセミナー（12:45~13:05）〉

13:25~14:10　谷 時雄（熊本大学大学院自然科学研究科 生命科学講座 教授）
「RNA 制御のケミカルバイオロジー」

Session 3:　〈座長：松下 修三（熊本大学エイズ学研究センター 病態制御分野）教授〉

14:10~14:55　米山 光俊（千葉大学真菌医学研究センター 感染免疫分野 教授）
「細胞内ウイルスセンサーによる非自己 RNA の認識とその生理機能」

14:55~15:10　〈コーヒーブレイク〉

15:10~15:55　小糸 厚（熊本大学大学院生命科学研究部 先端生命医療科学部門 感染･免疫学講座 感染制御学寄附講座 特任教授）
「シチジン脱アミノ化酵素によるレトロウイルス･レトロエレメントの制御」

15:55~16:40　高田 賢藏（北海道大学遺伝子病制御研究所 癌ウイルス分野 教授）
「EB ウイルスがコードする小 RNA による自然免疫修飾と発がん」

16:40~16:50　閉会の挨拶／山本 哲郎（熊本大学大学院生命科学研究部 分子病理学分野）
17:00~19:00　ミキサー

【問い合わせ･参加申込先】
〒861-2202 熊本県上益城郡益城町田原2025-5　(株)同仁化学研究所内
「フォーラム･イン･ドージン事務局」担当：尾方
Tel：0120-489548　Fax：0120-021557　E-mail：info@dojindo.co.jp

◆ランチョンセミナーでは、事前登録をいただいた方へ昼食（お弁当）をご用意いたしております。
◆講演終了後、ミキサー（無料）を同会場にて予定いたしております。
◆参加ご希望の方は、所属･氏名･連絡先（住所, TEL, FAX, E-mail）をご記入の上、E-mail または FAX にてお申込みください。
◆駐車場は有料となりますので（聴講による優待はございません）、できるだけ公共の交通機関をご利用ください。

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

DOJIN News No.140

ドージンニュース No.140　平成 23 年 9 月 22 日発行
株式会社同仁化学研究所　DOJINDO LABORATORIES
熊本県上益城郡益城町田原 2025-5 〒861-2202
発行責任者 吉田睦男　編集責任者　尾方亮子　年4回発行　許可なくコピーを禁ず