

2 酸化ストレス関連試薬

概要

酸素はホルモンや ATP などの生理活性のある化合物の合成に極めて重要である。酸素を有効に利用する能力は生物の進化の大きな駆動力であった。酸素は細胞中の各種酵素を活性化し、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) は細胞機能のコントロールに深く関与している。酸素そのものは生命にとって欠かせない本質的な分子であるが、DNA やタンパクなどの生体分子にとっては、派生する ROS によって損傷を被る、いわゆる酸化ストレスを起こす物質となる。

細胞での酸化ストレスは、代謝、放射線によるイオン化、DNA に直接作用する発がん物質などにより発生する ROS によって引き起こされる。代謝の最中に、酸素のごく一部が一電子還元によってスーパーオキシドになる。このスーパーオキシドはスーパーオキシド不均化酵素 (Super oxide dismutase: SOD) によって、二分子のスーパーオキシドから一分子の酸素と一分子の過酸化水素を生じる。過酸化水素はカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼによって水に還元される。しかしながら、過酸化水素がこれらの酵素によって十分に還元されない場合、鉄が関与する Fenton 反応により、極めて活性の高いヒドロキシラジカルを生じる。ヒドロキシラジカルは、UV 照射や放射線の水への直接照射によっても生じる。ヒドロキシラジカルは資質とも反応し、過酸化脂質を生じる。

しかしながら、全ての ROS が厄介者というわけではない。好中球のミエロペルオキシダーゼによって過酸化水素から生じる ROS の一種の次亜塩素酸イオンは、殺菌作用を持つ。一酸化窒素 (NO) は内皮細胞由来の弛緩因子で、NO 合成酵素から作られる。しかしながら、NO とスーパーオキシドアニオンが反応すると、毒性の高いパーオキシナイトライトが生じる。

ROS や反応性窒素化合物は生体内で多彩な役割を持っている。好気性生物は酸化ストレスを防御する機構を備えている。酸化ストレスに関しては、生体の防御機構の解明や酸化による損傷と疾患、老化プロセスとの関連が極めて活発に研究されてきた。この結果、ROS 関連物質や、ROS から派生する物質の分析方法が開発されてきた。スーパーオキシドアニオン、SOD、グルタチオン、グルタチオン還元酵素、グルタチオンペルオキシダーゼ、DNA 損傷、8-オキソグアニン、8-ニトログアニン、タンパクカルボニルなどである。以下、関連する項目について説明する。

酸化ストレスによる DNA 損傷

DNA に対する酸化ストレスは、特にヒドロキシラジカルによって引き起こされる。DNA に複数の変異を生じさせるヒドロキシラジカルは、Fenton 反応によって過酸化水素とスーパーオキシドアニオンから作られる。デオキシリボースへのヒドロキシラジカルの攻撃は DNA からの塩基の脱離を引き起こし、糖構造に変異を起こしたり脱塩基した abasic site (AP site) となる。これらの変異は、ROS によって引き起こされる主な DNA 損傷となる。これらの変異を測定するのは、酸化的 DNA 損傷の機構解明や生体システムへの影響の分析にとって重要である。ほとんどの場合、生命の保全のため、DNA の修復システムはそのような損傷を除去することになる。しかしながら、臨床的データは酸化的 DNA 損傷が多くの疾病プロセス、たとえば癌や神経変性疾患などに関与していることを示している。

DNA Damage Quantification Kit(Code: DK02) は、細胞や組織から分離したゲノム DNA の AP site の数を測定することに用いられる。DNA 損傷レベルは DNA 塩基数で 1×10^5 個当たり 1 ~ 40 個の範囲で測定できる。したがって、DNA Damage Quantification Kit は、発がん性物質の細胞障害性の測定や、DNA 修復機能の活性測定などに用いることができると考えられる。

8-Nitroguanine は DNA や RNA の塩基がニトロ化された分子で、炎症によって発生する多量の NO やスーパーオキシド分子がこのようなニトロ化を起こすことが知られている。DNA の複製時に、化学的に変異を受けたヌクレオチドは遺伝子変異を引き起こす。8-Nitroguanine は変異やがん化に関連する DNA 損傷のマーカーであると考えられている。また、8-Nitroguanine は細胞機能をコントロールし、酸化や還元に関与している。8-Nitroguanine 抗体は小社で取り扱っている。

酸化ストレス関連コンポーネント

SOD は生体内において、毒性の強いスーパーオキシドを消去する最も重要な抗酸化酵素の一つである。SOD はスーパーオキシドを酸化性の低い過酸化水素と酸素に変換する不均化酵素である。高い抗酸化活性により、SOD は酸化ストレスに起因する疾患の治療薬としての潜在的機能を持ち、老化プロセスを遅延する物質とも見なされている。SOD の抗酸化活性は還元型グルタチオンやその他の還元性試薬よりも極めて速い。ROS の初期代謝において速い段階で作用する。グルタチオンは、スーパーオキシド消去活性があるが、細胞内を還元的雰囲気保ち、酸化ストレスから逃れるために必要である。

SOD Assay Kit-WST(Code: S311) は、阻害反応に基づいて、スーパーオキシドアニオンの消去活性を測るものである。したがって、SOD だけでなく、SOD と同様のスーパーオキシド消去活性を持つものも測定できる。シトクローム C は最もよく使用される SOD 活性測定試薬であるが、スーパーオキシドとの反応性が高すぎて、低活性の SOD が測定できない。スーパーオキシドアニオンと WST-1 の反応性はシトクローム C の反応性よりも 70 倍以上低いため、希釈したサンプルの SOD 活性も測定できる。

Total Glutathione Quantification Kit(Code: T419) は、サンプル中の全グルタチオン量を測定するものである。キットには DTNB (エールマン試薬) とグルタチオン還元酵素が入っており、高感度にグルタチオンを測定できる。DTNB は還元型グルタチオンと反応し、強い黄色の色素化合物となる。このキットの測定レンジは 1 ~ 100 $\mu\text{mol/l}$ である。また、酸化型グルタチオンと還元型グルタチオンの量比が酸化ストレスの指標として注目されている。GSSG/GSH Quantification Kit(Code: G257) は、酸化型、還元型グルタチオンの分別定量に用いられる。

一酸化窒素 (NO)

NOは内皮由来の弛緩因子や血液抗凝固物質として同定されたものである。好中球から誘導された場合は神経伝達物質として作用し、活性化マクロファージから誘導された場合は細胞障害性物質として作用する。NOはスーパーオキシドアニオンと反応し、極めて毒性の高いパーオキシナイトライトとなる。NOのスーパーオキシドアニオンとの反応性はSODの3倍も高い。NOの最も重要な役割はグアニル酸シクラーゼを活性化することである。NOはフリーラジカルなので、反応性が高く不安定である。NOは生体内において、出現と同時に複雑な方法で形態を変える。NOの代謝物はNOと異なる生理活性を持つ。これが故に、NO代謝物を別個に機能分析することが必要である。

過酸化脂質 (脂質過酸化物)

過酸化脂質は、脂質、とりわけ、不飽和脂肪酸が酸化されることで生成する。この生成反応は連鎖的に起こるとされ、活性酸素であるHO・が不飽和脂肪酸を酸化して脂質ラジカル(L・)を発生する。次に、系中の酸素による酸化を受けて脂質ペルオキシドラジカルを生じた後、別の不飽和脂肪酸と作用することで過酸化脂質(LOOH)を生成する。これら連鎖反応におけるラジカル中間体の濃度は低く、生体試料等では過酸化脂質の状態としての存在が確認されている。また、過酸化脂質は活性酸素種の一つであり、更なる反応・分解を経て、その過程で種々の二次生成物を生じる。このように酸化作用を受けて起こる過酸化脂質の蓄積が、癌、老化や動脈硬化の要因と考えられていることから、過酸化脂質は酸化ストレスマーカーとなっている。

2-1 ストレスマーカー検出

GSSG/GSH Quantification Kit	15	NOC 18	36
Total Glutathione Quantification Kit	16	NOC 5	37
Liperfluo	17	NOC 7	37
MitoPeDPP	18	NOC 12	37
Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging	19	S-Nitrosoglutathione	38
Spy-LHP	20	Peroxyntirite 溶液	39
DPPP	21	SIN-1	40
SOD Assay Kit - WST	22		
-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit			
-AP Site Counting-	23		
ARP(Aldehyde Reactive Probe)	24		
3-Deoxyglucosone	25		
3-Deoxyglucosone Detection Reagents	26		
Anti-Nitroguanosine polyclonal antibody	27		
Anti-Nitroguanosine monoclonal antibody (Clone#NO ₂ G52)	28		

2-2 NO 検出

NO ₂ / NO ₃ Assay Kit-C II(Colorimetric)	
~Griess Reagent Kit~	29
NO ₂ / NO ₃ Assay Kit-FX(Fluorometric)	
~2,3-Diaminonaphthalene Kit~	30
Carboxy-PTIO	31
2,3-Diaminonaphthalene(for NO detection)	32
DTCS Na	32
MGD	33

2-3 NO 発生剤

NOR 5	34
NOR 1	35
NOR 3	35
NOR 4	35

2-4 NOS 阻害剤

L-NAME	41
L-NMMA	42

2-5 ACE 阻害剤活性測定用

ACE Kit - WST	43
---------------	----

2-6 生体硫黄解析用試薬・キット

-SulfoBiotics- SSP4	44
-SulfoBiotics- HSip-1	45
-SulfoBiotics- HSip-1 DA	45
-SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kit	46
-SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kit Plus	46
-SulfoBiotics- PEG-PCMal	47
-SulfoBiotics- Biotin-HPDP(WS) solution	48
-SulfoBiotics- Protein S-Nitrosylation Monitoring Kit	49

2-7 生体硫黄研究用ドナー類

-SulfoBiotics- Sodium Polysulfide Set	50
-SulfoBiotics- Sodium disulfide (Na ₂ S ₂)	51
-SulfoBiotics- Sodium trisulfide (Na ₂ S ₃)	51
-SulfoBiotics- Sodium tetrasulfide (Na ₂ S ₄)	51
-SulfoBiotics- GYY4137	52
-SulfoBiotics- H ₂ S donor 5a	53
-SulfoBiotics- H ₂ S donor 8l	53
-SulfoBiotics- H ₂ S donor 8o	53
-SulfoBiotics- Sodium sulfide (Na ₂ S)	54
-SulfoBiotics- Stable isotope Na ₂ S(34) solution	55

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格はHPにてご確認ください。

2-1 ストレスマーカー検出

GSSG/GSH Quantification Kit

同仁品コード：G257
200 tests ¥53,200

Protocol: 「グルタチオン（還元型、酸化型）を分別定量したい」

キット内容

• Enzyme Solution	50 μ l \times 1
• Coenzyme	\times 2
• Buffer Solution	60 ml \times 1

• Substrate (DTNB)	\times 4
• Standard GSH	\times 1
• Standard GSSG	\times 1
• Masking Reagent	20 μ l \times 1

取扱注意 1. 危険物第四類 第二石油類 危険等級III
2. 安衛法, 化審法, 3. 火気厳禁 4. 保存方法: 冷蔵

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)



性質 グルタチオン (γ -L-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 thiol transferase 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る。グルタチオンは通常、生体内で還元型 (GSH) として存在しているが、酸化ストレスなどの刺激によって還元型 (GSH) から酸化型 (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る。

本キットには、GSH を隠蔽するためのマスキング剤が含まれており、マスキング剤をサンプルに添加することでサンプル内の GSH のみを隠蔽することができる。その後、酵素リサイクリング法を用いた 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 発色 ($\lambda_{\max}=412$ nm) を測定することで、GSSG のみを定量でき、別途、測定した総グルタチオン量から GSSG 量を差し引くことで GSH 量を求めることが可能となる。

なお、本キットでの総グルタチオンの測定範囲は 0.5 ~ 50 μ mol/l、GSSG の測定範囲は 0.5 ~ 25 μ mol/l である。

特長

- 酸化型グルタチオン (GSSG)、還元型グルタチオン (GSH) の分別定量が可能である。
- 短時間で簡便に多検体の測定が可能である。

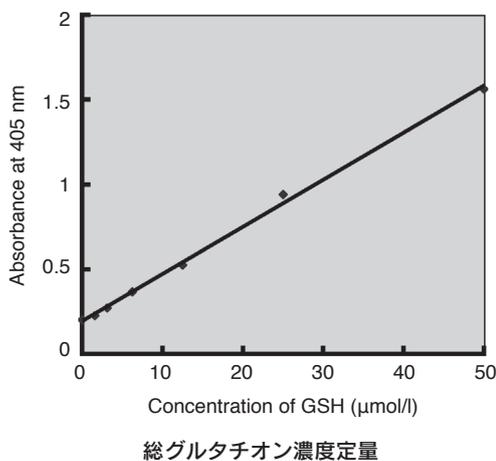
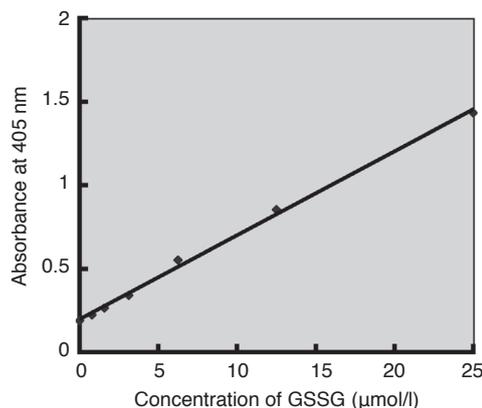
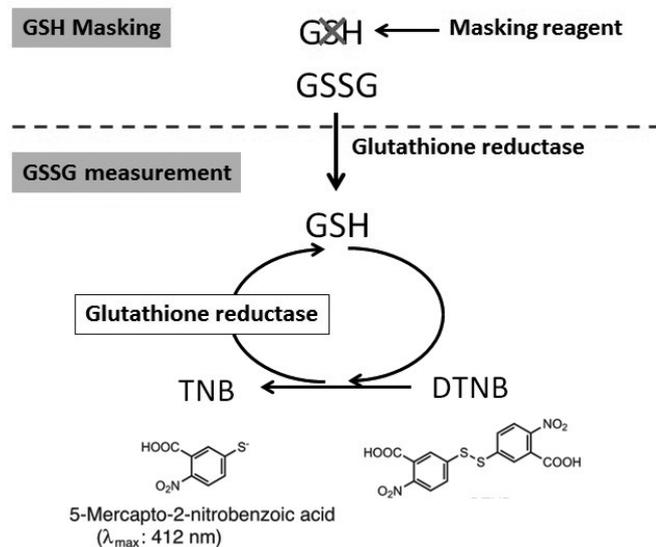
測定できるサンプル数の目安

GSSG 測定用: 18 samples / 検量線: 18 samples
GSH 測定用: 18 samples / 検量線: 18 samples
※ n=3 で測定した場合

* 使用方法および注意事項は別冊プロトコル集をご覧ください。

(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理



還元型グルタチオン (GSH) 濃度算出:
GSH 濃度 = 総グルタチオン濃度 - (GSSG 濃度 \times 2)

参考文献

最新の情報は web へ 同仁化学 G257 で検索

- M. E. Anderson, "Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide in Biological Samples", *Methods in Enzymol.*, 1985, 113, 548.
- M. A. Baker, G. J. Cerniglia and A. Zaman, "Microtiter Plate Assay for the Measurement of Glutathione and Glutathione Disulfide in Large Numbers of Biological Samples", *Anal. Biochem.*, 1990, 190, 360.
- C. Vandeputte, I. Guizon, I. Genestie-Denis, B. Vannier and G. Lorenzon, "A Microtiter Plate Assay for Total Glutathione and Glutathione Disulfide Contents in Cultured/isolated Cells: Performance Study of a New Miniaturized Protocol", *Cell Biol. Toxicol.*, 1994, 10, 415.

Total Glutathione Quantification Kit

同仁品コード：T419
100 tests ¥30,500

キット内容

[100 tests]

• Substrate (DTNB) × 2
• Enzyme Solution 50 μ l × 1

• Coenzyme × 2
• Buffer Solution 50 ml × 1
• Standard GSH × 1

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

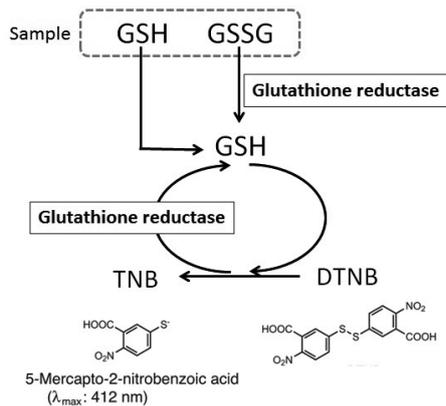
性質 グルタチオン (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine) は生体内に存在するトリペプチドで、glutathione peroxidase、glutathione S-transferase および thiol transferase 等の酵素基質として関与している。またグルタチオンは酸素ラジカル捕捉能があり、アスコルビン酸と同様の抗酸化作用が認められている。

グルタチオンは、次に示した酵素リサイクリング法によって高感度に検出される。

5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) はジスルフィドを分子内に含有し、グルタチオンを酸化すると同時に自身は 5-Mercapto-2-nitrobenzoic acid に還元される。このチオール基の吸光度 ($\lambda_{\max}=412$ nm) よりグルタチオンを定量することができる。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理



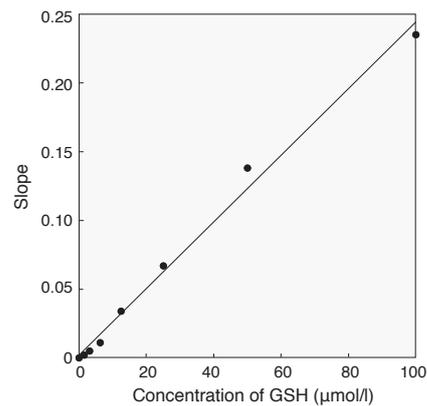
Total Glutathione Quantification Kit はこの酵素リサイクリング法を利用した 96 穴マイクロプレート用キットである。短時間 (30 分以内) で、高感度に total glutathione を定量することが可能である。

酸化型グルタチオン (GSSG)、還元型グルタチオン (GSH) の分別定量を行いたい場合には、GSSG/GSH Quantification Kit (Code: G257) をご使用いただきたい。

特長

- 1) 高感度に total glutathione を定量できる。
(検出範囲：6.25 ~ 100 μ mol/l)
- 2) 一度に多検体の測定が可能である。

グルタチオンの検出線



発色後 10 分の kinetic method による検量線の例

参考文献

- 1) O. W. Griffith, "Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide Using Glutathione Reductase and 2-Vinylpyridine", *Anal. Biochem.*, 1980, 106, 207.
- 2) M. E. Anderson, "Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide in Biological Samples", *Methods in Enzymol.*, 1985, 113, 548.
- 3) M. A. Baker, G. J. Cerniglia and A. Zaman, "Microtiter Plate Assay for the Measurement of Glutathione and Glutathione Disulfide in Large Numbers of Biological Samples", *Anal. Biochem.*, 1990, 190, 360.
- 4) C. Vandeputte, I. Guizon, I. Genestie-Denis, B. Vannier and G. Lorenzon, "A Microtiter Plate Assay for Total Glutathione and Glutathione Disulfide Contents in Cultured/isolated Cells: Performance Study of a New Miniaturized Protocol", *Cell Biol. Toxicol.*, 1994, 10, 415.
- 5) S. A. McGrath-Morrow and J. Stahl, "Inhibition of Glutamine Synthetase in A549 Cells During Hyperoxia", *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2002, 27, 99.
- 6) T. Sato, K. Seyama, Y. Sato, H. Mori, S. Souma, T. Akiyoshi, Y. Kodama, T. Mori, S. Goto, K. Takahashi, Y. Fukuchi, N. Maruyama and A. Ishigami, "Senescence Marker Protein-30 Protects Mice Lungs from Oxidative Stress, Aging, and Smoking", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006, 174, 530.
- 7) M. L. Mulhern, C. J. Madson, A. Danford, K. Ikesugi, P. F. Kador and T. Shinohara, "The Unfolded Protein Response in Lens Epithelial Cells from Galactosemic Rat Lenses", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006, 47(9), 3951.

最新の情報は web へ で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

Liperfluo

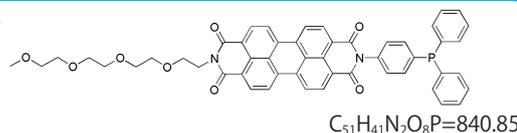
N-(4-Diphenylphosphinophenyl)-*N'*-(3,6,9,12-tetraoxatridecyl)perylene-3,4,9,10-tetracarboxydiimide
〔CAS No. 1448846-35-2〕

Protocol: 「生細胞の過酸化脂質を蛍光検出したい」

同仁品コード：L248
50 µg × 5 ¥20,600

規格 (1) 性状：暗赤色結晶性粉末又は固体
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
溶解例 0.8 mg / 1 ml ジメチルスルホキシド
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵, 遮光, 2. 窒素置換

構造式



性質 Liperfluo は、Spy-LHP の類似化合物で、過酸化脂質検出用の試薬であり、過酸化脂質で特異的に酸化されエタノール等の有機溶媒中で強い蛍光を発する (図 1, 2)。Liperfluo 酸化体の励起波長および蛍光波長はそれぞれ 524 nm、535 nm で、測定試料への光によるダメージや試料由来の自家蛍光の影響を軽減できる。本試薬は、ジイソキノリン環の片方にテトラエチレングリコール基が導入されたもので、Spy-LHP よりも水系バッファー中での分散性が向上している。Liperfluo 酸化体は水中ではほとんど蛍光を発しないが、細胞膜等の脂溶性の高い部位では蛍光性となることから、容易に蛍光顕微鏡による生細胞の過酸化脂質のイメー

ジングやフローサイトメトリーによる細胞の過酸化脂質量の分析に使用することができる。

特長

- 1) 細胞の過酸化脂質のイメージングや検出ができる
- 2) 長波長励起のため、細胞への光ダメージや自家蛍光の影響を軽減できる
- 3) 過酸化脂質特異性が高い

* 使用方法および注意事項は別冊プロトコル集をご覧ください。

蛍光特性

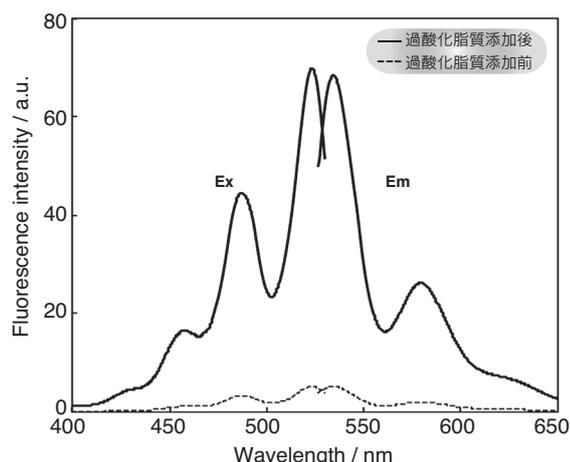


図1 過酸化脂質による Liperfluo の励起および蛍光スペクトル変化 (エタノール溶媒中)

反応選択性

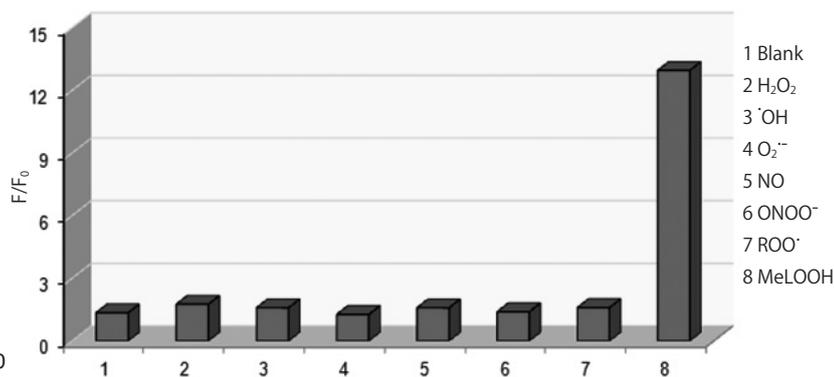


図2 Liperfluo の活性酸素種に対する反応選択性

参考文献

- 1) N. Soh, T. Ariyoshi, T. Fukaminato, H. Nakajima, K. Nakano and T. Imato, "Swallow-tailed Perylene Derivative: a new Tool for Fluorescent Imaging of Lipid Hydroperoxides", *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 3762.
- 2) K. Yamanaka, Y. Saito, J. Sakiyama, Y. Ohuchi, F. Oseto and N. Noguchi, "A Novel Fluorescent Probe with High Sensitivity and Selective Detection of Lipid Hydroperoxides in Cells", *RSC Adv.*, 2012, 2 (20), 7894.
- 3) V. E. Kagan, G. W. Mao, F. Qu, J. P. F. Angeli, S. Doll, C. S. Croix, H. H. Dar, B. Liu, V. A. Tyurin, V. B. Ritov, A. A. Kapralov, A. A. Amoscato, J. Jiang, T. Anthonyamuthu, D. Mohammadyani, Q. Yang, B. Proneth, J. K. Seetharaman, S. Watkins, I. Bahar, J. Greenberger, R. K. Mallampalli, B. R. Stockwell, Y. Y. Tyurina, M. Conrad and H. Bayir, "Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis", *Nat. Chem. Biol.* 2017, 13 (1), 81.
- 4) Y. Nakashima, S. Ohta, A. M. Wolf, "Blue light-induced oxidative stress in live skin.", *Free Radic. Biol. Med.*, 2017, 108, 300.
- 5) M. Tsugita, N. Morimoto and M. Nakayama, "SiO₂ and TiO₂ nanoparticles synergistically trigger macrophage inflammatory responses", *Part Fibre Toxicol.*, 2017, DOI 10.1186/s12989-017-0192-6.
- 6) K. Iuchi, A. Imoto, N. Kamimura, K. Nishimaki, H. Ichimiya, T. Yokota and S. Ohta, "Molecular hydrogen regulates gene expression by modifying the free radical chain reaction-dependent generation of oxidized phospholipid mediators", *Sci Rep*, 2016, 6, 18971.
- 7) A. J. Clark, and H. R. Petty, "WO₃/Pt nanoparticles promote light-induced lipid peroxidation and lysosomal instability within tumor cells.", *Nanotechnology*, 2016, 27 (7), 075103.

最新の情報は web へ 同仁化学 L248 で検索

MitoPeDPP

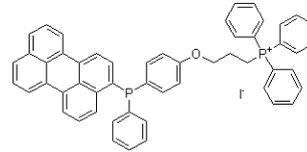
3-[4-(Perylenylphenylphosphino)phenoxy]propyltriphenylphosphonium iodide

 同仁品コード：M466
 5 μg \times 3 ￥18,600

Protocol：「生細胞の過酸化脂質を蛍光検出したい」

- 規格** (1) 性状：黄色～橙黄色結晶性粉末又は固体
 (2) 純度 (HPLC)：80.0% 以上
 (3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵, 遮光, 2. 窒素置換

構造式

C₅₃H₄₁IOP₂=882.74

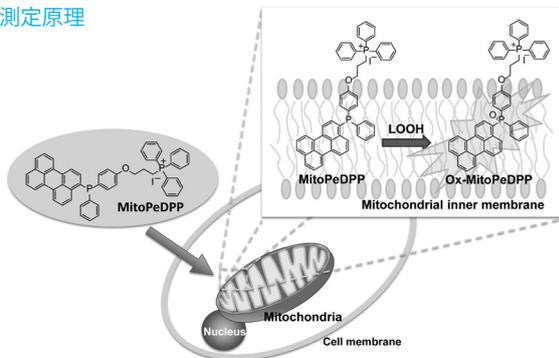
性質 MitoPeDPP は、分子内にミトコンドリアに局在化するトリフェニルホスホニウム基を持つため、細胞膜を透過してミトコンドリアに集積する。ミトコンドリアに集積した MitoPeDPP は、膜中の脂溶性過酸化物によって特異的に酸化され蛍光を発する。酸化 MitoPeDPP の励起および蛍光波長はそれぞれ 452 nm、470 nm で、測定試料への光によるダメージや試料由来の自家蛍光の影響を軽減できることから、蛍光顕微鏡を用いた脂溶性過酸化物のイメージングが可能である。

特長

- 1) 細胞小器官であるミトコンドリア特異的に集積する
- 2) ミトコンドリア膜中の脂溶性過酸化物を検出可能
- 3) 励起波長 488 nm、蛍光波長 535 nm で測定できる

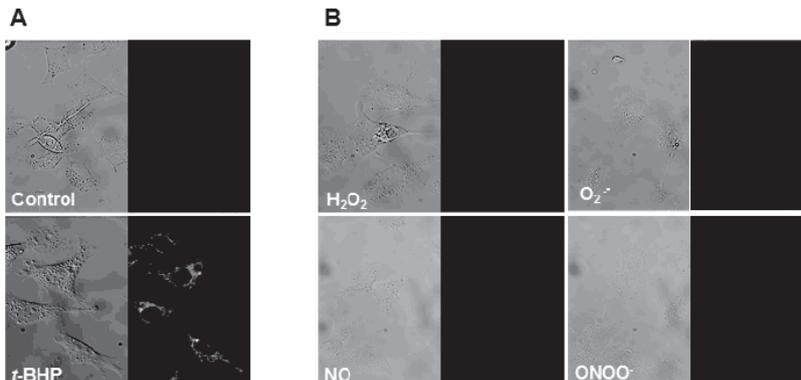
※本品は福岡大学理学部 塩路准教授らにより開発された製品である。

測定原理



MitoPeDPP は生細胞膜を透過して分子内の正電荷の作用によりミトコンドリアに集積した後、ミトコンドリア膜内の過酸化物による酸化を受けて蛍光が増大する。

MitoPeDPP の反応選択性



細胞内でミトコンドリアに集積した MitoPeDPP は脂溶性過酸化物により酸化を受けて蛍光を発した (A)。一方、細胞内では他の ROS、RNS との反応性は低いことが確認された (B)。

- A: HepG2 細胞中で MitoPeDPP を 15 分インキュベート後、100 $\mu\text{mol/l}$ *t*-BHP を添加
 更に 15 分のインキュベート後、顕微鏡画像を取得
- B: HepG2 細胞中で MitoPeDPP を 15 分インキュベート後、各種 ROS、RNS 発生剤を添加
 H₂O₂、NO、ONOO⁻ は各発生剤の濃度を 100 $\mu\text{mol/l}$ 使用
 O₂^{•-} は PMA により発生させ 10 $\mu\text{mol/l}$ の濃度で使用
 ※写真は位相差画像 (左) と蛍光画像 (右) を示す。
 ※フィルター (wavelength/band pass): 470/40 (Ex)、525/50 (Em)

参考文献

- 1) K. Shioji, Y. Oyama, K. Okuma and H. Nakagawa, "Synthesis and properties of fluorescence probe for detection of peroxides in mitochondria.", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, 20 (13), 3911.
- 2) S. Oka, J. Leon, K. Sakumi, T. Ide, D. Kang, F. M. LaFerla and Y. Nakabeppu, "Human mitochondrial transcriptional factor A breaks the mitochondria-mediated vicious cycle in Alzheimer's disease", *Sci Rep*, 2016, 6, 18971.
- 3) S. Nakamura, A. Nakanishi, M. Takazawa, S. Okihiro, S. Urano and K. Fukui, "Ionomycin-induced calcium influx induces neurite degeneration in mouse neuroblastoma cells: Analysis of a time-lapse live cell imaging system", *Free Radic. Res.*, 2016, 50 (11), 1214.

[最新の情報は web へ](#) [同仁化学 M466](#) [で検索](#)

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
 社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認下さい。

 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
 細菌研究用
 試薬
 膜タン
 パク質
 ラベル
 化剤
 二価性
 試薬
 酸化
 還元
 イオン
 電極
 シンチ
 レーター
 生化学用
 緩衝剤
 キレート
 比色/金属
 試薬
 水質
 分析用
 溶媒
 抽出
 高純度
 溶媒
 その他
 機能性
 有機材料

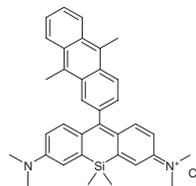
Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging

N-[10-(9,10-Dimethylanthracen-2-yl)-7-(dimethylamino)-5,5-dimethylidibenzo[*b,e*]silin-3(5*H*)-ylidene]-*N*-methylmethanaminium, chloride
〔CAS No. 1621598-01-3〕

Protocol: 「一重項酸素を検出したい」

- 規格** (1) 性状：青色～青緑色固体
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵, 遮光

構造式



同仁品コード：MT05
2 μg ￥20,000

C₃₅H₃₇ClN₂Si=549.22

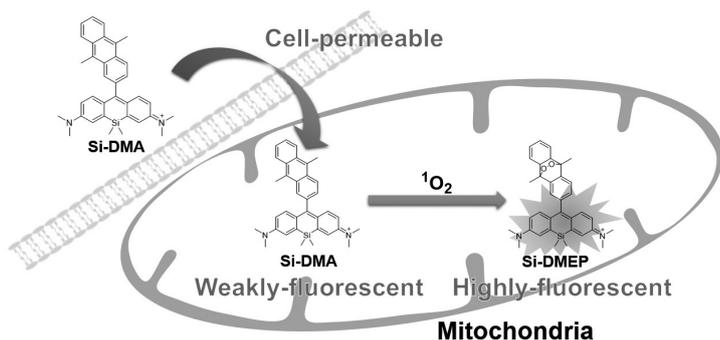
性質 活性酸素種の一つであり非常に強い酸化力を持つ一重項酸素は、皮膚のシミやシワの原因となることが知られており、化粧品分野ではこの一重項酸素を消去する化合物の探索が進められている。一方、医学分野、特に癌の治療においては、光感受性物質とレーザー照射により発生した一重項酸素の酸化力により癌細胞を破壊する光線力学的治療の研究が進められており、細胞内における一重項酸素レベルをモニターできる試薬が望まれている。しかしながら既存の一重項酸素検出試薬は細胞膜を透過しない為、細胞内の一重項酸

素を検出することができない。

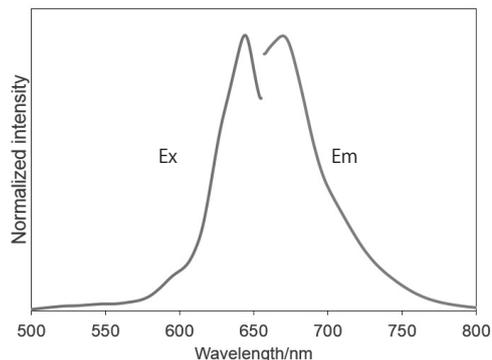
真嶋らが開発した一重項酸素検出試薬 Si-DMA は、silycon rhodamine (SiR) 骨格を蛍光団とし、一重項酸素反応部位としてアントラセンを有した構造を持つ蛍光プローブであり、この Si-DMA は、容易に細胞膜を透過しミトコンドリアに集積後、選択的に一重項酸素と応答して強い蛍光を発する。このことから Si-DMA は、細胞内一重項酸素のリアルタイムイメージングが可能な蛍光色素として今後の研究への応用が期待される。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

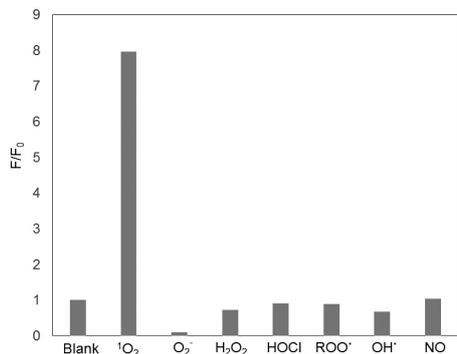
Si-DMA の細胞染色原理



Si-DMEP の励起蛍光スペクトル



Si-DMA の反応特異性



各種活性酸素種および活性窒素種への応答性を比較したところ、Si-DMA は一重項酸素に選択的に応答を示し、蛍光強度比が 8 倍以上増加することが確認された。

< 比較条件 >
PBS (pH7.4) : メタノール = 1 : 1
Si-DMA : 終濃度 1 μmol/l
ROS : 10 mmol/l
RNS : 10 mmol/l

参考文献

- 1) S. Kim, T. Tachikawa, M. Fujitsuka and T. Majima, "Far-Red Fluorescence Probe for Monitoring Singlet Oxygen during Photodynamic Therapy", *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136 (33), 11707.

最新の情報は web へ [同仁化学 MT05](#) で検索

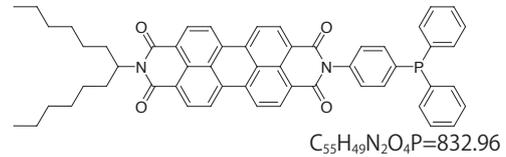
Spy-LHP

2-(4-Diphenylphosphanylphenyl)-9-(1-hexylheptyl)anthra
[2,1,9-def,6,5,10-d'e'f']diisoquinoline-1,3,8,10-tetraone
〔CAS No.892396-71-3〕

同仁品コード：S343
1 mg ¥21,700

- 規格** (1) 性状：黒赤色結晶性粉末又は固体
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1 mg/ 150 µl アセトン (25°C, 飽和)、
1 mg/ 1 ml クロロホルム
- 取扱注意** 1. 保存方法：遮光, 2. 塞素置換

構造式



性質 Spy-LHP は、過酸化脂質検出用の試薬である。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る。

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あるが、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った。

Spy-LHP は、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る。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る。蛍光波長は長波長励起 ($\lambda_{ex}=524$ nm、 $\lambda_{em}=535$ 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るが、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)、強い蛍光を発する。

Tsuduki らは、リノレン酸やジャカル酸などの不飽和脂肪酸の脂質過酸化を測定する過程で、TBA 法及び Spy-LHP を用いた結果の相関性を報告している。

特長

- 1) 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。
- 2) 脂質への親和性が高く、過酸化脂質と特異的に反応する。

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ある。

蛍光特性

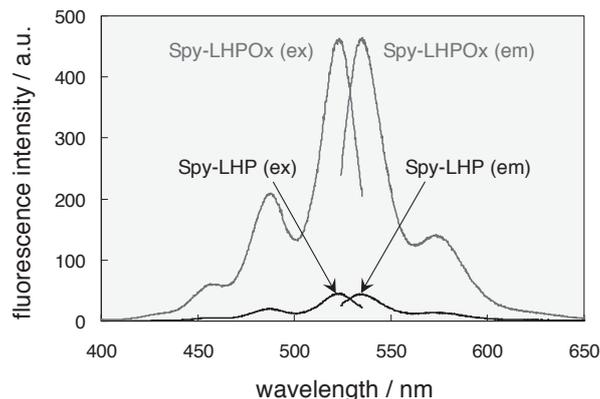


図1 Spy-LHP および酸化体 (Spy-LHPOx) の励起および蛍光スペクトル

反応選択性

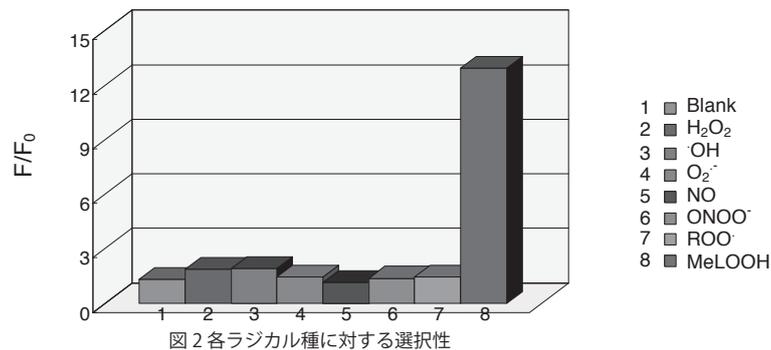


図2 各ラジカル種に対する選択性

参考文献

- 1) N. Soh, T. Ariyoshi, T. Fukaminato, K. Nakano, M. Irie and T. Imato, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, 16(11), 2943.
- 2) T. Chan, Y. Shimizu, P. Pospisil, N. Nijo, A. Fujiwara, Y. Taninaka, T. Ishikawa, H. Hori, D. Nanba, A. Imai, N. Morita, M. Yoshioka-Nishimura, Y. Izumi, Y. Yamamoto, H. Kobayashi, N. Mizusawa, H. Wada and Y. Yamamoto, "Quality control of photosystem II: lipid peroxidation accelerates photoinhibition under excessive illumination", *PLoS One*, 2012, 7(12), e52100.
- 3) Shinohara N, Tsuduki T, Ito J, Honma T, Kijima R, Sugawara S, Arai T, Yamasaki M, Ikezaki A, Yokoyama M, Nishiyama K, Nakagawa K, Miyazawa T and Ikeda I., Jacaric acid a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, has a strong antitumor effect *in vitro* and *in vivo*.", *Biochim. Biophys. Acta.*, 2012, 1821 (7), 980.
- 4) H. Tsuru, H. Shibaguchi, M. Kuroki, Y. Yamashita and M. Kuroki, "Tumor growth inhibition by sonodynamic therapy using a novel sonosensitizer", *Free Radic. Biol. Med.*, 2012, 53(3), 464.

最新の情報は web へ 同仁化学 S343 で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

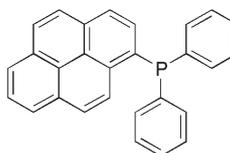
細胞
増殖/毒性
酸化
ストレス
分子
生物学
細胞内
蛍光プローブ
細胞
染色
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

DPPP

Diphenyl-1-pyrenylphosphine
〔CAS No. 110231-30-6〕同仁品コード：D350
10 mg ¥13,200 340-07471

- 規格** (1) 性状：淡黄色粉末
(2) 純度 (HPLC)：97.0% 以上
(3) クロロホルム溶液：試験適合
(4) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1 mg/ml(クロロホルム)
- 取扱注意** 1. 保存方法：遮光 2. 窒素置換

構造式

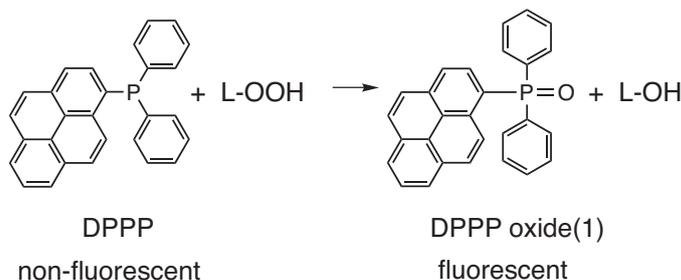
C₂₈H₁₉P=386.42

性質 過酸化脂質（ヒドロペルオキシド）は脂質を構成する不飽和脂肪酸が自動酸化され酸化第一次生成物として生成する。それらは食品の品質低下の要因として、食品化学などの分野では古くから研究されている。生体内過酸化脂質の挙動が各種疾患や老化と関連づけられ非常に注目されており、生化学分野では微量過酸化脂質の正確で容易な定量法が望まれている。

生体内過酸化脂質の定量に広く利用されている TBA 法は非常に簡便かつ高感度であるが、マロンジアルデヒドに代表される酸化第二次生成物を検出・定量する物で、必ずしも脂質の酸化を正しく反映しないと指摘されている。また、イソルミノールなどを用いた化学発光検出による HPLC 分析法が報告され、ヒドロペルオキシドのピコモルレベルの選択的、高感度な分析が可能となったが、ラジカル捕捉剤の共

存による発光強度の低下、コピキノン等への応答、さらにポストラベル時の溶媒に制限があるなど種々の問題点もある。

DPPP は、ヒドロペルオキシドに高い反応選択性を有する発光分析試薬として、目黒らにより開発された。DPPP はそれ自体では蛍光性ではないが、温和な条件下（メタノール中、60℃、60分）、ヒドロペルオキシドと定量的に反応し強い蛍光性の DPPP oxide (λ_{ex}=352 nm、λ_{em}=380 nm) を与える。本法では 0.1～7 nmol のヒドロペルオキシドを選択的に定量でき、公定法である過酸化物価 (POV) 法と非常に良く一致する。また、過酸化脂質の HPLC 分離と DPPP による検出を組み合わせたポストカラムシステムでの検出限界は 1～2 pmol レベルで、化学発光検出法に匹敵する検出感度を持つ。



Reaction scheme of DPPP with hydroperoxide

参考文献

- 1) K. Akasaka, T. Suzuki, H. Ohruai and H. Meguro, "Study on Aromatic Phosphines for Novel Fluorometry of Hydroperoxides(II) - the Determination of Lipid Hydroperoxides with Diphenyl-1-Pyrenylphosphine -", *Anal. Lett.*, 1987, 20, 797.
- 2) K. Akasaka, H. Ohruai and H. Meguro, "An Aromatic Phosphine Reagent for the HPLC-fluorescence Determination of Hydroperoxides -Determination of Phosphatidylcholine Hydroperoxides in Human Plasma-", *Anal. Lett.*, 1988, 21, 965.
- 3) K. Akasaka, I. Sasaki, H. Ohruai and H. Meguro, "A Simple Fluorometry of Hydroperoxides in Oils and Foods", *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1992, 56, 605.
- 4) K. Akasaka, S. Ijichi, K. Watanabe, H. Ohruai and H. Meguro, "High-performance Liquid Chromatography and Post-Column Derivatization with Diphenyl-1-Pyrenylphosphine for Fluorimetric Determination of Triacylglycerol Hydroperoxides", *J. Chromatogr.*, 1992, 596, 197.
- 5) K. Akasaka, H. Ohruai and H. Meguro, "Simultaneous Determination of Hydroperoxides of Phosphatidylcholine, Cholesterol Esters and Triacylglycerols by Column-Switching High-Performance Liquid Chromatography with a Post-column Detection system", *J. Chromatogr.*, 1993, 622, 153.
- 6) K. Akasaka, H. Ohruai and H. Meguro, "Normal-phase High-performance Liquid Chromatography with a Fluorimetric Postcolumn Detection System for Lipid Hydroperoxides", *J. Chromatogr.*, 1993, 628, 31.
- 7) Y. Okamoto, A. Watanabe, E. Niki, T. Yamashita and N. Noguchi, "A Novel Fluorescent Probe Diphenyl-pyrenylphosphine to Follow Lipid Peroxidation in Cell Membranes", *FEBS Lett.*, 2000, 474, 137.
- 8) 大類 洋, 赤坂和昭, 目黒照, "ホスフィン試薬による過酸化脂質分析法の開発", *DOJIN NEWS*, 1994, 69, 12.

最新の情報は web へ で検索

SOD Assay Kit - WST

同仁品コード：S311
500 tests ¥22,900

Protocol: 「SOD 様活性を測定したい」

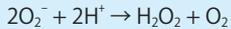
キット内容

[500 tests]

- WST Solution 5 ml × 1
- Enzyme Solution 100 μl × 1
- Buffer Solution 100 ml × 1
- Dilution Buffer 50 ml × 1

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

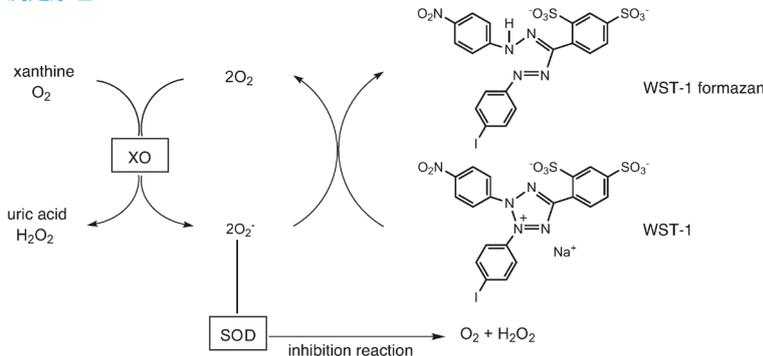
性質 活性酸素種 (ROS: Reactive Oxygen Species) は、DNA やタンパク質と反応し、化学修飾するため、老化や発癌との関わりがあると考えられ、活発な研究が行われている。中でも活性酸素の一つであるスーパーオキシドを消去する、superoxide dismutase (SOD) および SOD 様物質が注目されている。SOD は以下のスーパーオキシドの不均化反応を触媒する酵素であり、スーパーオキシドに由来する酸化ストレスを減少させる役割がある。



SOD Assay Kit-WST は、高水溶性ホルマザンを生成するテトラゾリウム塩 WST-1 を使用しているため、NBT 法の様なホルマザンの溶解操作は不必要である。また、WST-1 は xanthine oxidase (XO) と直接反応しないため、100% SOD 阻害率を測定することができる。また 96 穴マイクロプレート対応なので、一度に多検体の測定が可能である。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理



測定波長：450 nm

特長

- 1) 100% SOD 阻害率を測定することができる。
- 2) ホルマザンの溶解操作が不要で、操作が簡単である。
- 3) 一度に多検体の測定が可能である。
- 4) 高感度であり、サンプルの希釈倍率を高くすることができるため、妨害物質の影響を抑えることができる。

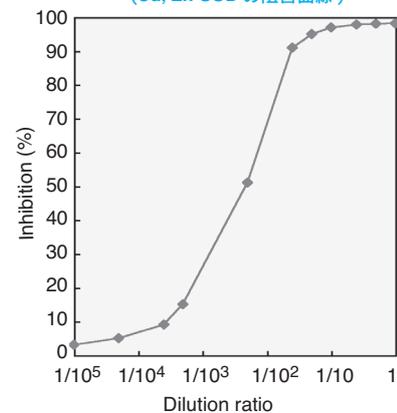
測定可能なサンプル数

7 点の希釈率 (1, 1/5, 1/5², 1/5³, 1/5⁴, 1/5⁵, 1/5⁶) で n=3 で測定する場合、20 サンプル測定できる。

* 使用方法はプロトコルをご覧ください。

阻害曲線例

(Cu, Zn-SOD の阻害曲線)



参考文献

- 1) H. Ukeda, A. K. Sarker, D. Kawana and M. Sawamura, "Flow-Injection Assay of Superoxide Dismutase Based on the Reduction of Highly Water-Soluble Tetrazolium", *Anal. Sci.*, 1999, 15, 353.
- 2) H. Ukeda, D. Kawana, S. Maeda and M. Sawamura, "Spectrophotometric Assay for Superoxide Dismutase Based on the Reduction of Highly Water-soluble Tetrazolium Salts by Xanthine-Xanthine Oxidase", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1999, 63, 485.
- 3) 受田浩之, 森山洋憲, 川名大介, 片山泰幸, 中林錦一, 沢村正義, 「スーパーオキシドアニオン消去活性新規測定法の食品への応用」, 日本食品科学工学会誌, 2002, 49, 25.
- 4) 森山洋憲, 片山泰幸, 中林錦一, 受田浩之, 沢村正義, 「高知県産茶および青果物の有するスーパーオキシドアニオン消去能の測定」, 日本食品科学工学会誌, 2002, 49, 679.
- 5) H. Ukeda, T. Shimamura, M. Tsubouchi, Y. Harada, Y. Nakai and M. Sawamura, "Spectrophotometric Assay of Superoxide Anion Formed in Maillard Reaction Based on Highly Water-soluble Tetrazolium Salt", *Anal. Sci.*, 2002, 18, 1151.
- 6) N. Tsuji, N. Hirayanagi, M. Okada, H. Miyasaka, K. Hirata, M. H. Zenk and K. Miyamoto, "Enhancement of Tolerance to Heavy Metals and Oxidative Stress in *Dunaliella Tertiolecta* by Zn-induced Phytochelatin Synthesis", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 293, 653.
- 7) A. Sakudo, D. C. Lee, K. Saeki, Y. Nakamura, K. Inoue, Y. Matsumoto, S. Itohara and T. Onodera, "Impairment of Superoxide Dismutase Activation by N-Terminally Truncated Prion Protein (PrP) in PrP-deficient Neuronal Cell Line", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 308, 660.
- 8) J.-H. Zhu, X. Zhang, J. P. McClung and X. G. Lei, "Impact of Cu,Zn-Superoxide Dismutase and Se-Dependent Glutathione Peroxidase-1 Knockouts on Acetaminophen-Induced Cell Death and Related Signaling in Murine Liver", *Exp. Biol. Med.*, 2006, 231, 1726.
- 9) H. R. Rezvani, S. Dedieu, S. North, F. Belloc, R. Rossignol, T. Letellier, H. de Verneuil, A. Taieb, F. Mazurier, "HIF-1 α : a Key Factor in the Keratinocyte Response to UVB Exposure", *J. Biol. Chem.*, 2007, 10, 1074.
- 10) S. Goldstein and G. Czapski, "Comparison Between Different Assays for Superoxide Dismutase-like Activity", *Free Rad. Res. Commun.*, 1991, 12, 5.
- 11) R. H. Burdon, V. Gill and C. Rice-Evans, "Reduction of a Tetrazolium Salt and Superoxide Generation in Human Tumor Cells (HeLa)", *Free Rad. Res. Commun.*, 1993, 18, 369.

最新の情報は web へ [同仁化学 S311](#) で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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細菌研究用試薬膜タンパク質ラベル化剤二価性試薬酸化還元イオン電極シンチレーター生化学用緩衝剤キレート比色/金属試薬水質分析用溶媒抽出高純度溶媒その他機能性有機材料

-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit -AP Site Counting-

Protocol: 「DNA の塩基損傷部位の数を測定したい」

同仁品コード: DK02
20 samples ¥74,200

キット内容

[20 samples]

・ARP-DNA Standard Solution 各 250 µl × 1
(0, 2.5, 5.0, 10, 20, 40 AP sites/100,000 bp)
・ARP Solution 250 µl × 1
・DNA Binding Solution 10 ml × 1
・Washing Buffer × 1

・HRP-Streptavidin 25 µl × 1
・TE Buffer 40 ml × 1
・Substrate Solution 10 ml × 1
・Filtration Tube 20 tubes
・96-well Microplate/U Bottom × 1

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

感嘆符



性質 生物の遺伝情報を保持している DNA は、複製時の DNA polymerase のエラーに加えて、環境中の放射線や紫外線、またはアルキル化剤等の化学物質、生体内における活性酸素等の代謝産物により損傷を受ける。これらのエラーや損傷が正しく修復されなければ突然変異を誘発し、これが癌や老化の原因となる。

DNA 損傷部位には修復機構が働き、その一つとして塩基除去修復がある。この時 AP site (apurinic / apyrimidinic site) と呼ばれる塩基除去部位が出現する。つまり AP site の検出は DNA 損傷部位を測定し得る有効な方法となる。

ARP (N'-Aminoxyethylmethylcarbonylhydrazino-D-biotin) はこの AP site と特異的に結合しビオチン化できる試薬として知られている。-Nucleostain- DNA Damage Quantification

Kit -AP Site Counting- は、ARP を用いて DNA をビオチン化し 96 穴マイクロプレートに固定化して検体 DNA 中の AP site を簡便に定量できるキットである。

このキットには、AP site 数が既定された標準 DNA が含まれており、HRP 標識ストレプトアビジンによるビオチン検出法を用いることによって AP site の定量ができる。

* 使用法はプロトコルをご覧ください。

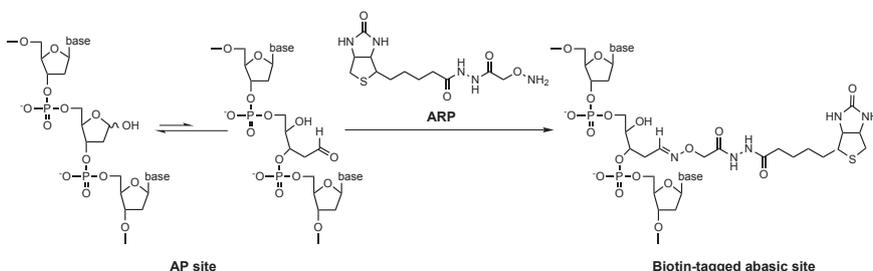
* 小社では、DNA 精製キットを販売しております。

Get pureDNA Kit-Cell, Tissue(Code: GK03))

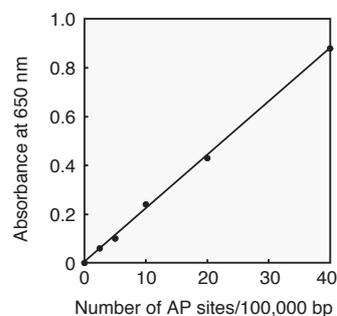
DNA 精製に関するご質問は、カスタマーサポートまでお問い合わせください。

(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理



検量線



ARP-DNA Standard solution を用いて作成した検量線

参考文献

- 1) A. Sancar and G. B. Sancar, "DNA Repair Enzymes", *Annu. Rev. Biochem.*, 1988, 57, 29.
- 2) T. Lindahl and B. Nyberg, "Rate of Depurination of Native Deoxyribonucleic Acid", *Biochemistry*, 1972, 11, 3610.
- 3) M. Liuzzi and M. Talpaert-Borle, "A New Approach to the Study of the Base-excision Repair Pathway Using Methoxyamine", *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 5252.
- 4) M. Weinfeld, M. Liuzzi and M. C. Paterson, "Response of Phage T4 Polynucleotide Kinase Toward Dinucleotides Containing Apurinic Sites: Design of a 32P-postlabeling Assay for Apurinic Sites in DNA", *Biochemistry*, 1990, 29, 1737.
- 5) B. X. Chen, K. Kubo, H. Ide, B. F. Erlanger, S. S. Wallace and Y. W. Kow, "Properties of a Monoclonal Antibody for the Detection of Abasic Sites, a Common DNA Lesion", *Mutat. Res.*, 1992, 273, 253.
- 6) J. A. Gralnick and D. M. Downs, "The YggX Protein of *Salmonella enterica* Is Involved in Fe(II) Trafficking and Minimizes the DNA Damage Cause by Hydroxyl Radicals: Residue CYS-7 is Essential for YggX Function", *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 20708.
- 7) J. W. Pippin, R. Durvasula, A. Petermann, K. Hiromura, W. G. Couser and S. J. Shankland, "DNA Damage is a Novel Response to Sublytic Complement C5b-9 Induced Injury in Podocytes", *J. Clin. Invest.*, 2003, 111, 877.
- 8) S. Watanabe, T. Ichimura, N. Fujita, S. Tsuruzono, I. Ohki, M. Shirakawa, M. Kawasuji and M. Nakao, "Methylated DNA-binding Domain 1 and Methylpurine DNA Glycosylase Link Transcriptional Repression and DNA Repair in Chromatin", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 12859.
- 9) M. Endres, M. Ahmadi, I. Kruman, D. Biniszkiwicz, A. Meisel and K. Gertz, "Folate Deficiency Increases Postischemic Brain Injury", *Stroke*, 2005, 36, 321.
- 10) J.-M. Li, M. Mogi, K. Tsukuda, H. Tomochika, J. Iwanami, L.-J. Min, C. Nahmias, M. Iwai and M. Horiuchi, "Angiotensin II-Induced Neuronal Differentiation via Angiotensin II Type 2 (AT2) Receptor-MMS2 Cascade Involving Interaction between AT2 Receptor-Interacting Protein and Src Homology 2 Domain-Containing Protein-Tyrosine Phosphatase 1", *Mol. Endocrinol.*, 2007, 21(2), 499.

最新の情報は web へ 同仁化学 DK02 で検索

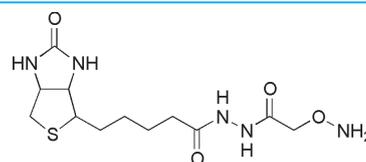
ARP(Aldehyde Reactive Probe)

N-(Aminoxyacetyl)-*N'*-biotinylhydrazine
〔CAS No. 139585-03-8〕

同仁品コード：A305
10 mg ￥21,600 340-07611

規格	(1) 性状：白色粉末
	(2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上
	(3) 水溶状：試験適合
	(4) IR スペクトル：試験適合
	(5) NMR スペクトル：試験適合
溶解例	10 mg/ml(水)
取扱注意	1. 保存方法：冷凍

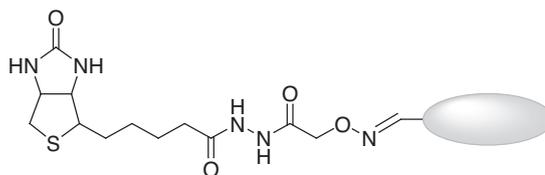
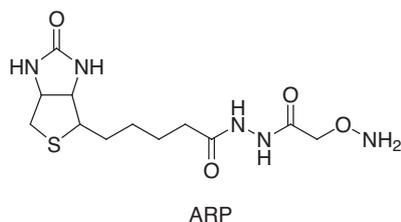
構造式

C₁₂H₂₁N₅O₄S=331.39

性質 DNA はアルキル化剤や発癌剤、放射線などにより物理的、化学的損傷を受ける。損傷した DNA は細胞内の損傷修復機構により正常な状態に修復される。その修復過程において脱プリン/脱ピリミジン部位 (AP site) が生じる。正常な修復系ではこの AP site は AP-エンドヌクレアーゼにより選択除去され、DNA ポリメラーゼにより DNA の修復が行われるが、何らかの原因で AP site が修復されなかった場合、突然変異や発癌、細胞死の原因となる。AP site を定量することは、DNA 損傷の 1 つの目安となり、また定量法の開発は DNA 修復機構の研究に大きく寄与するものである。

ARP(Aldehyde Reactive Probe) は久保らにより、比較的簡単に AP site を定量できる試薬として開発された。

ARP は AP site のアルデヒド基と特異的に結合する化学プローブで、AP site に生じたアルデヒド基と反応するアミノキシル部位とアビジンと特異的に結合するビオチン部位からできている。ARP は、ビオチンヒドラジドよりもアルデヒド基に対する反応性が高く、ビオチン/アビジン-酵素/発色基質の系で定量した場合 10,000 ヌクレオチド当たり 1 個程度の割合で含まれる AP site を定量することができる²⁾。-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit -AP Site Counting-(Code: DK02) は、ARP を用いて AP site の数を測定するためのキットで、本キットによりサンプルから単離された DNA 中の AP site を 1 AP site/10⁵ 塩基対の感度で測定できる。



参考文献

- R. Rago, J. Mitchen and G. Wilding, "DNA Fluorometric Assay in 96-well Tissue Culture Plates Using Hoechst 33258 after Cell Lysis by Freezing in Distilled Water", *Anal. Biochem.*, 1990, 191, 31.
- K. Kubo, H. Ide, S. S. Wallace and Y. W. Kow, "A Novel, Sensitive, and Specific Assay for Abasic Sites, The Most Commonly Produced DNA Lesion", *Biochemistry*, 1992, 31, 3703.
- H. Ide, K. Akamatsu, Y. Kimura, K. Michiue, K. Makino, A. Asaeda, Y. Takamori and K. Kubo, "Synthesis and Damage Specificity of a Novel Probe for the Detection of Abasic Sites in DNA", *Biochemistry*, 1993, 32, 8276.
- M. Yao and Y. W. Kow, "Strand-specific Cleavage of Mismatch-containing DNA by Deoxyinosine 3'-Endonuclease from *Escherichia coli*", *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 31390.
- 岡村忠, "光による DNA の損傷とその修復", *化学*, 1994, 49, 425.
- 大塚栄子, "遺伝子の損傷ががんの引き金に DNA の変異と修復のメカニズムを探る", *化学*, 1994, 49, 394.
- T. Shida, M. Noda and J. Sekiguchi, "The recognition of DNA containing AP-site by *E. coli* endonuclease IV(exonuclease)", *Nucleic Acids Symposium Series*, 1995, 34, 87.
- H. B. Sun, L. Qian and H. Yokota, "Detection of abasic sites on individual DNA molecules using atomic force microscopy", *Anal. Chem.*, 2001, 73, 2229.
- J. Nakamura, J. A. Swenberg, "Endogenous Apurinic/apyrimidinic Sites in Genomic DNA of Mammalian Tissues", *Cancer Res.*, 1999, 59, 2522.
- Y. W. Kow and A. Dare, "Detection of Abasic Sites and Oxidative DNA Base Damage using an ELISA-like Assay", *METHODS*, 2000, 22, 164.
- L. Yan, A. Bulgar, Y. Miao, V. Mahajan, J. R. Donze, S. L. Gerson and L. Liu, "Combined Treatment with Temozolomide and Methoxyamine: Blocking Apurinic/Pyrimidinic Site Repair Coupled with Targeting Topoisomerase II", *Clin. Cancer Res.*, 2007, 13, 1532.
- P. D. Chastain, II, J. Nakamura, J. Swenberg and D. Kaufman, "Nonrandom AP site distribution in highly proliferative cells", *FASEB J.*, 2006, 20(14), 2612.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

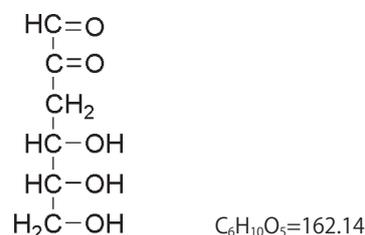
3-Deoxyglucosone

3-Deoxy-D-erythro-hexos-2-ulose
〔CAS No. 4084-27-9〕

同仁品コード：D535
1 mg ¥12,400

規格 (1) 性状：白色～淡黄色固体
(2) 純度 (HPLC)：99.0% 以上
(3) IR スペクトル：試験適合
溶解例 60 mg/ml(水)
取扱注意 1. 保存方法：冷凍 2. 窒素置換，吸湿注意

構造式



性質 3-Deoxyglucosone(3-DG) は、生体内でグルコースによる糖化反応生成物として生じるジカルボニル化合物であり、AGE (Advanced glycation end-product) 形成の前駆体として知られており、タンパクのアミノ基と反応して Carboxymethyl lysine や pyrraline などを生成する。

3-DG は、糖尿病で高値を示すなど糖尿病合併症の指標として注目されている。本品は、血漿、血清中の 3-DG の検出及び定量分析の標準、あるいは AGE 生成モデル実験等に使用することができる。

参考文献

最新の情報は web へ で検索

- 1) F. Hayase, R. H. Nagaraj, S. Miyata, F. G. Njoroges and V. M. Monnier, "Aging of Proteins: Immunological Detection of a Glucose-derived Pyrrole Formed during Maillard Reaction *in Vivo*", *J. Biol. Chem.*, 1989, 264, 3758.
- 2) S. Miyata and V. Monnier, "Immunohistochemical Detection of Advanced Glycosylation End Products in Diabetic Tissue Using Monoclonal Antibody to Pyrrole", *J. Clin. Invest.*, 1992, 89, 1102.
- 3) S. Taneda and V. M. Monnier, "ELISA of Pentosidine, an Advanced Glycation End Product, in Biological Specimens", *Clin. Chem.*, 1994, 40, 1766.
- 4) D. G. Dyer, J. A. Blackedge, S. R. Thorpe and J. W. Baynes, "Formation of Pentosidine during Nonenzymatic Browning of Proteins by Glucose", *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 11654.
- 5) T. Shinoda, F. Hayase and H. Kato, "Suppression of Cell-cycle Progression during the S Phase of Rat Fibroblasts by 3-Deoxyglucosone, a Maillard Reaction Intermediate", *Biotechnol. Biochem.*, 1994, 58, 1936.
- 6) F. Hayase, Y. Konishi and H. Kato, "Identification of the Modified Structure of Arginine Residue in Proteins with 3-Deoxyglucosone, a Maillard Reaction Intermediate", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1995, 59, 1407.
- 7) T. Niwa, "3-Deoxyglucosone: Metabolism, Analysis, Biological Activity, and Clinical Implication.", *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1999, 737, 23.
- 8) 宮田哲, "蛋白糖化反応マーカーとしての 3-DG", 「蛋白の糖化」医学書院 (繁田幸男、谷口直之編), 1997, 57.
- 9) D. V. Zyzak, J. M. Richardson, S. R. Thoepe and J. W. Baynes, "Formation of Reactive Intermediates from Amadori Compounds under Physiological Conditions", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, 316, 547.
- 10) B. S. Szwergold, F. Kappler and T. R. Brown, "Identification of Fructose 3-Phosphate in the Lens of Diabetic Rats", *Science*, 1990, 247, 451.

3-Deoxyglucosone Detection Reagents

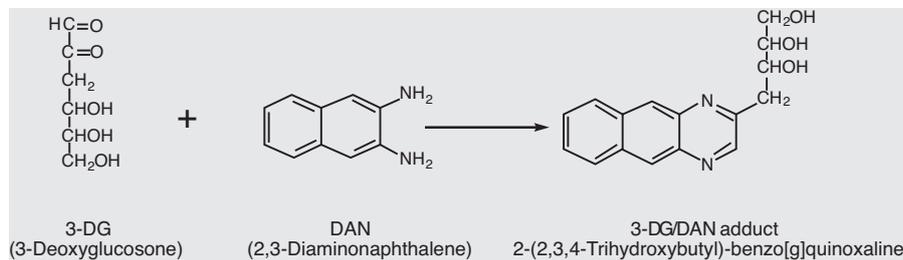
同仁品コード：D536
1 set ¥26,500

規格 (1) DAN：試験適合
(2) 3-DG/DAN adduct：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷凍、遮光 2. 吸湿注意

性質 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^{1,2)}とMSによる方法³⁻⁷⁾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⁸⁾。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性物質で、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。

ヒト血漿での3-DG検出例においては、糖尿病患者では

31.8 ± 11.3 ng/mlと健常人12.8 ± 5.2 ng/mlに比べて顕著に高値を示し、さらに血漿3-DGレベルは血漿グルコース及びHbA1cのレベルと良い相関を示すことが報告されている²⁾。糖尿病モデルラット血漿では918 nmol/l、コントロールで379 nmol/lと糖尿病で高値を示していたものの、蛋白糖化反応を阻害するアミノグアニジンを投与する(50 mg/kg/day)と、3週間後の血漿3-DG値は695 nmol/lと増加が抑制されていたと報告がある¹⁾。本製品を用いて生体内3-DGの定量が可能であり、糖尿病合併症の病態および成因解析に応用できる。



参考文献

- 1) H. Yamada, S. Miyata, N. Igaki, H. Yatabe, Y. Miyauchi, T. Ohara, M. Sakai, H. Shoda, M. Oimomi and M. Kasuga, "Increase in 3-Deoxyglucosone Levels in Diabetic Rat Plasma", *J. Biol. Chem.*, 1994, 269(32), 20275.
- 2) Y. Hamada, E. Nakashima, J. Nakamura, N. Koh, H. Fujisawa, N. Hotta and H. Yago, "Effects of Glycemic Control on Plasma 3-Deoxyglucosone Levels in NIDDM Patients", *Diabetes Care*, 1997, 20, 1466.
- 3) T. Niwa, N. Takeda, H. Yoshizumi, A. Tatematsu, M. Ohara, S. Tomiyama and K. Niimura, "Presence of 3-Deoxyglucosone, a Potent Protein Crosslinking Intermediate of Maillard Reaction, in Diabetic Serum", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 196, 837.
- 4) K. J. Knecht, M. S. Feather and J. W. Baynes, "Detection of 3-Deoxyfructose and 3-Deoxyglucosone in Human Urine and Plasma: Evidence for Intermediate Stages of the Maillard Reaction *in Vivo*", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992, 294, 130.
- 5) T. Niwa, T. Katsuzaki, S. Miyazaki, T. Momoi, T. Akiba, T. Miyazaki, K. Nokura, F. Hayase, N. Tatemichi and Y. Takei, "Amyloid Beta 2-Microglobulin is Modified with Imidazolone, a Novel Advanced Glycation end Product, in Dialysis-related Amyloidosis", *Kidney Int.*, 1997, 51, 187.
- 6) S. Lal, F. Kappler, M. Walker, T. J. Orchard, P. J. Beisswenger, B. S. Szwegold and T. R. Brown, "Quantitation of 3-Deoxyglucosone Levels in Human Plasma", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997, 342, 254.
- 7) T. Niwa, T. Katsuzaki, T. Momoi, T. Miyazaki, H. Ogawa, A. Saito, S. Miyazaki, K. Maeda, N. Tatemichi and Y. Takei, "Modification of Beta2m with Advanced Glycation End Products as Observed in Dialysis-related Amyloidosis by 3-DG Accumulating in Uremic Serum", *Kidney Int.*, 1996, 49, 861.
- 8) 楠仁美, 宮田哲, "糖化反応中間体 3-deoxyglucosone の特異的測定法", *DOJIN NEWS*, 2001, 98, 3.

最新情報は web へ で検索

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

Anti-Nitroguanosine polyclonal antibody

Polyclonal anti-nitroguanosine antibody

同仁品コード：AB01
50 µg ¥56,600

Protocol: 「ニトログアノシンを検出したい」

規格 (1) 性状：無色～淡黄色微濁溶液

(2) 力価：試験適合

取扱注意 1. 保存方法：冷凍

性質 8-ニトログアノシンは、一酸化窒素 (NO) とスーパーオキシドラジカルとの反応から生じる過酸化亜硝酸 (パーオキシナイトライト) や、ミエロパーオキシダーゼ/亜硝酸イオン/過酸化水素、等によってグアノシンがニトロ化されて生成する修飾核酸である。これまでに、ウイルス感染^{1,2)}、細菌感染^{3,4)}、炎症性疾患⁵⁾、がん⁵⁾、喫煙⁶⁾、などでグアノシンのニトロ化が亢進していることが明らかになり、酸化ストレスの新しいバイオマーカーとして注目されている。また最近では、シグナル伝達物質として知られているサイクリック GMP (cGMP) がニトロ化された 8-ニトロ cGMP の生体内での生成が同定され³⁾、活性酸素シグナルの新しいメディエーターとしての機能が示唆されている^{3,7)}。

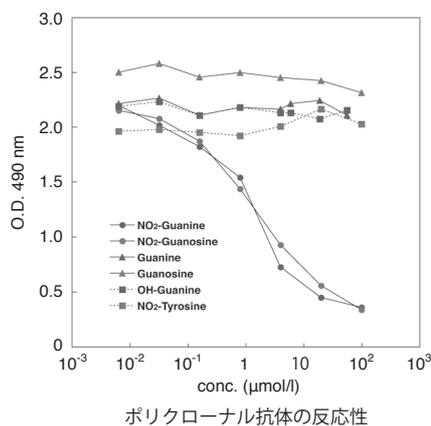
本抗体は、図 1 に示すように正常な核酸塩基は認識しないが、ニトロ化核酸に対しては、ニトログアノシンのみならずニトログアニン、ニトロキサンチンといったニトロ化塩基や、それらのヌクレオチドなどに対して優れた反応性を示す。このため、本抗体は、グアノシンの 8 位がニトロ化されたものを幅広く認識する、グアニンニトロ化のユニバーサルな抗体である。

ウサギ由来であるためマウスなどげっ歯類の動物の組織染色に適用できる。

本抗体は熊本大学医学部赤池孝章先生との共同開発によるものである。

製品形態

200 µg/ml PBS 溶液、防腐剤として 0.1% ProClin を含む。冷凍保存 (解凍後は冷蔵保存)

**ポリクローナル抗体の反応性 (IC₅₀)**

- ・強く反応する (1 µmol/l)
8-NO₂-guanosine, 8-NO₂-guanine
- ・交差反応なし
guanosine, guanine, 8-OH-guanine, 3- NO₂-tyrosine

使用濃度

ELISA (5 µg/ml)、免疫組織染色 (10 µg/ml)

動物種

ウサギ (日本白色種)

プレートに固相化した NO₂-Guanosine 結合 BSA と各種の物質に対する、本抗体の反応を競合法 ELISA で検定したものである。本抗体が反応する物質は濃度に依存した右下がりの曲線を与え抗体が反応していることを示している。抗体が反応しない物質に対しては、競合物質の濃度に関係なく抗体は固相化した NO₂-Guanosine 結合 BSA に反応するためほぼ一定の値を示す。

参考文献

- 1) T. Akaike, S. Okamoto, T. Sawa, J. Yoshitake, F. Tamura, K. Ichimori, K. Miyazaki, K. Sasamoto and H. Maeda, "8-nitroguanosine formation in viral pneumonia and its implication for pathogenesis", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 685.
- 2) J. Yoshitake, T. Akaike, T. Akuta, F. Tamura, T. Ogura, H. Esumi and H. Maeda, "Nitric oxide as an endogenous mutagen for Sendai virus without antiviral activity", *J. Virol.*, 2004, 78, 8709.
- 3) T. Sawa, M. H. Zaki, T. Okamoto, T. Akuta, Y. Tokutomi, S. Kim-Mitsuyama, H. Ihara, A. Kobayashi, M. Yamamoto, S. Fujii, H. Arimoto and T. Akaike, "Protein S-guanylation by the biological signal 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate", *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3, 727.
- 4) M. H. Zaki, S. Fujii, T. Okamoto, S. Islam, S. Khan, K. A. Ahmed, T. Sawa and T. Akaike, "Cytoprotective function of heme oxygenase 1 induced by a nitrated cyclic nucleotide formed during murine salmonellosis", *J. Immunol.*, 2009, 182, 3746.
- 5) Y. Terasaki, T. Akuta, M. Terasaki, T. Sawa, T. Mori, T. Okamoto, M. Ozaki, M. Takeya and T. Akaike, "Guanine nitration in idiopathic pulmonary fibrosis and its implication for carcinogenesis", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006, 174, 665.
- 6) T. Sawa, M. Tatemichi, T. Akaike, A. Barbin and H. Ohshima, "Analysis of urinary 8-nitroguanine, a marker of nitrative nucleic acid damage, by high-performance liquid chromatography-electrochemical detection coupled with immunoaffinity purification: association with cigarette smoking", *Free Radic. Biol. Med.*, 2006, 40, 711.
- 7) K. A. Ahmed, T. Sawa and T. Akaike, "Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides", *Amino Acids*, 2011, 41(1), 123.
- 8) T. Sawa, H. Arimoto and T. Akaike, "Regulation of redox signaling involving chemical conjugation of protein thiols by nitric oxide and electrophiles", *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21(7), 1121.

最新情報は web へ で検索

Anti-Nitroguanosine monoclonal antibody(Clone#NO₂G52)

同仁品コード：AB02
50 µg ¥67,000

Monoclonal anti-nitroguanosine antibody

Protocol: 「ニトログアノシンを検出したい」

- 規格** (1) 性状：無色～淡黄色微濁液体
(2) 力価：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍

性質 8-ニトログアノシンは、一酸化窒素 (NO) とスーパーオキシドラジカルとの反応から生じる過酸化亜硝酸 (パーオキシナイトライト) や、ミエロパーオキシダーゼ/亜硝酸イオン/過酸化水素、等によってグアノシンがニトロ化されて生成する修飾核酸である。これまでに、ウイルス感染^{1,2)}、細菌感染^{3,4)}、炎症性疾患⁵⁾、がん⁵⁾、喫煙⁶⁾、などでグアノシンのニトロ化が亢進していることが明らかになり、酸化ストレスの新しいバイオマーカーとして注目されている。また最近では、シグナル伝達物質として知られているサイクリック GMP(cGMP) がニトロ化された8-ニトロ cGMPの生体内での生成が同定され³⁾、活性酸素シグナルの新しいメディエーターとしての機能が示唆されている^{3,7-9)}。

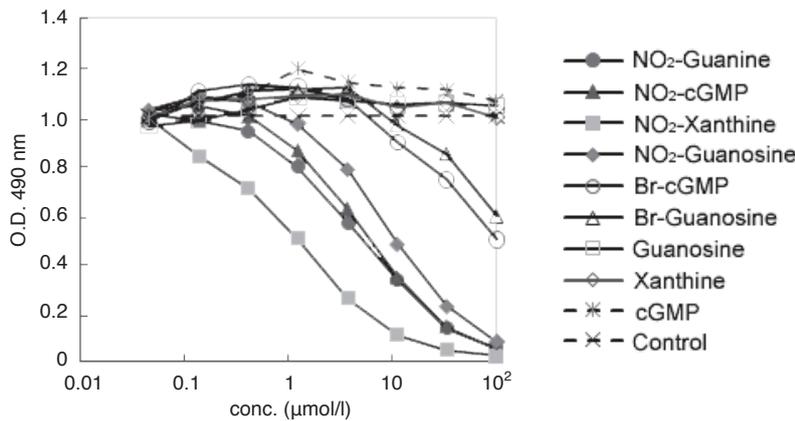
本抗体は、正常な核酸塩基は認識しないが、ニトロ化核酸に対しては、ニトログアノシンのみならずニトログアニン、

ニトロキサンチンといったニトロ化塩基や、それらのヌクレオチドであるニトロ cGMP、ニトロ GMP、ニトロ GTP などに対して優れた反応性を示す。このため、本抗体は、グアニンの8位がニトロ化されたものを幅広く認識する、グアニンニトロ化のユニバーサルな抗体である。本抗体は、免疫組織染色法に加え、本抗体を樹脂へ固定化して、ニトログアニン誘導体のアフィニティー精製^{3,6)}への利用も可能である。

本抗体は熊本大学医学部赤池孝章先生との共同開発によるものである。

製品形態

1 mg/ml PBS 溶液、防腐剤として 0.1% ProClin を含む。
冷凍保存 (解凍後は冷蔵保存)



モノクローナル抗体 NO₂G52 の反応性 (IC₅₀)

- ・強く反応する (10 µmol/l)
8-NO₂-guanosine, 8-NO₂-guanine, 8-NO₂-cGMP, 8-NO₂-Xanthine
- ・わずかに交差反応あり (>1 mmol/l)
8-Br-guanosine, 8-Br-guanine, 8-Br-cGMP, 8-Cl-guanine
- ・交差反応なし
guanosine, guanine, 8-OH-guanine, 8-OH-deoxyguanosine, xanthine, adenine, adenosine, thymine, deoxythymidine, uracil, uridine, 3-NO₂-tyrosine, 2-NO₂-imidazole, cytosine

動物種

マウス (BALB/c)

使用濃度

ELISA(1 µg/ml)、免疫染色組織 (10 µg/ml)

モノクローナル抗体 NO₂G52 の反応性

プレートに固相化した NO₂-Guanosine 結合 BSA と各種の物質に対する、本抗体の反応を競合法 ELISA で検定したものである。本抗体が反応する物質は濃度に依存した右下がりの曲線を与え抗体が反応していることを示している。

モノクローナル抗体は、8位がニトロ化されたものを幅広く認識し、正常なヌクレオチドや核酸塩基には反応しない。抜群の特異性と高力価を有している。

参考文献

- 1) T. Akaike, S. Okamoto, T. Sawa, J. Yoshitake, F. Tamura, K. Ichimori, K. Miyazaki, K. Sasamoto and H. Maeda, "8-nitroguanosine formation in viral pneumonia and its implication for pathogenesis", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 685.
- 2) J. Yoshitake, T. Akaike, T. Akuta, F. Tamura, T. Ogura, H. Esumi and H. Maeda, "Nitric oxide as an endogenous mutagen for Sendai virus without antiviral activity", *J. Virol.*, 2004, 78, 8709.
- 3) T. Sawa, M. H. Zaki, T. Okamoto, T. Akuta, Y. Tokutomi, S. Kim-Mitsuyama, H. Ihara, A. Kobayashi, M. Yamamoto, S. Fujii, H. Arimoto and T. Akaike, "Protein S-guanylation by the biological signal 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate", *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3, 727.
- 4) M. H. Zaki, S. Fujii, T. Okamoto, S. Islam, S. Khan, K. A. Ahmed, T. Sawa and T. Akaike, "Cytoprotective function of heme oxygenase 1 induced by a nitrated cyclic nucleotide formed during murine salmonellosis", *J. Immunol.*, 2009, 182, 3746.
- 5) Y. Terasaki, T. Akuta, M. Terasaki, T. Sawa, T. Mori, T. Okamoto, M. Ozaki, M. Takeya and T. Akaike, "Guanine nitration in idiopathic pulmonary fibrosis and its implication for carcinogenesis", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006, 174, 665.
- 6) T. Sawa, M. Tatemichi, T. Akaike, A. Barbin and H. Ohshima, "Analysis of urinary 8-nitroguanine, a marker of nitrative nucleic acid damage, by high-performance liquid chromatography-electrochemical detection coupled with immunoaffinity purification: association with cigarette smoking", *Free Radic. Biol. Med.*, 2006, 40, 711.
- 7) M. Feilisch, "Nitrated cyclic GMP as a new cellular signal", *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3, 687.
- 8) K. A. Ahmed, T. Sawa and T. Akaike, "Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides", *Amino Acids*, 2011, 41(1), 123.
- 9) T. Sawa, H. Arimoto and T. Akaike, "Regulation of redox signaling involving chemical conjugation of protein thiols by nitric oxide and electrophiles", *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21(7), 1121.

最新の情報は web へ で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

2-2 NO 検出

NO₂/NO₃ Assay Kit-C II(Colorimetric) ~ Griess Reagent Kit ~

Protocol: 「NO を測定したい」

同仁品コード: NK05
100 回用 ¥30,900 344-07991

キット内容

• NaNO ₂ 標準溶液 (100 μmol/l)	× 1	• 補酵素	× 1
• NaNO ₃ 標準溶液 (100 μmol/l)	× 1	• 試薬 A	× 1
• 緩衝溶液 (20 mmol/l, pH 7.6)	× 1	• 試薬 B	× 1
• 還元酵素	× 1		

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵

性質 Griess 法は一酸化窒素 (NO) が酸化されて生じる NO₂⁻ によるジアゾニウム塩化合物とナフチルエチレンジアミンのアゾカップリングを利用して検出する方法である。NO を直接測定するものではないが、発生した NO 量を簡単に測定できるため広く使用されている。

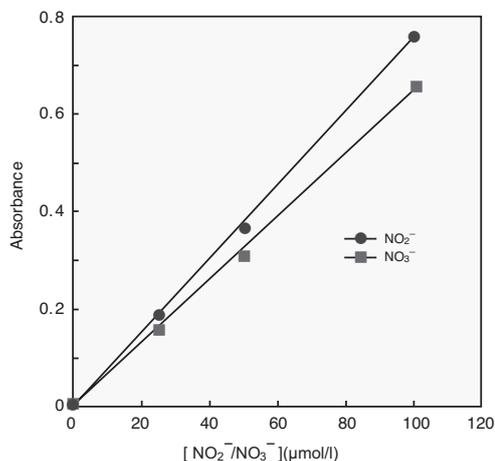
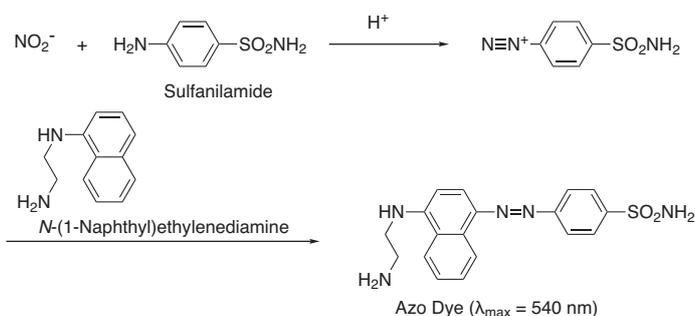
NO は N₂O₃ あるいは N₂O₄ となり水中で加水分解され最終的に NO₂⁻ と NO₃⁻ になるので NO₂⁻ と同時に NO₃⁻ も測定する必要がある。本キットは還元酵素を含み NO₃⁻ を NO₂⁻

に還元できるので [NO₂⁻] と [NO₃⁻] の両方が測定できる。本キットは 10 ~ 100 μmol/l の濃度領域の測定に適している。

測定波長: 540 nm (530 ~ 580 nm の領域で測定可能。)

* 測定試料によっては除蛋白用の装置、試薬が必要となる。
* 使用方法はプロトコルをご覧ください。

測定原理

NO₂/NO₃ Assay Kit-C II を用いた NO₂⁻ と NO₃⁻ の検量線

参考文献

- 1) L. J. Ignarro, G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns and G. Chaudhuri, "Endothelium-Derived Relaxing Factor Produced and Released from Artery and Vein in Nitric Oxide", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 9265.
- 2) W. R. Tracey, J. Linden, M. J. Peach and R. A. Johns, "Comparison of Spectrophotometric and Biological Assays for Nitric Oxide (NO) and Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF): Nonspecificity of the Diazotization Reaction for NO and Failure to Detect EDRF", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1990, 252(2), 922.
- 3) J. S. Pollock, U. Forstermann, J. A. Mitchell, T. D. Warner, H. H. H. W. Schmidt, M. Nakane and F. Murad, "Purification and Characterization of Particulate Endothelium-derived Relaxing Factor Synthesis from Cultured and Native Bovine Aortic Endothelial Cells", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 10480.
- 4) H. H. H. W. Schmidt, T. D. Warner, M. Nakane, U. Forstermann and F. Murad, "Regulation and Subcellular Location of Nitrogen Oxide Synthases in RAW264.7 Macrophages", *Mol. Pharmacol.*, 1992, 41, 615.
- 5) S. Archer, "Measurement of Nitric Oxide in Biological Models", *FASEB J.*, 1993, 7, 349.
- 6) M. B. Gilliam, M. P. Sherman, J. M. Griscavage and L. J. Ignarro, "A Spectrophotometric Assay for NADPH Oxidation by Aspergillus Nitrate Reductase", *Anal. Biochem.*, 1993, 212, 359.
- 7) S. Bodis and A. Haregewoin, "Significantly Reduced Salivary Nitric Oxide Levels in Smokers", *Ann. Oncol.*, 1994, 5, 371.
- 8) D. S. A. Majid, M. Godfrey, M. B. Grisham and L. G. Navar, "Relation Between Pressure Natriuresis and Urinary Excretion of Nitrate/Nitrite in Anesthetized Dogs", *Hypertension*, 1995, 25, 860.
- 9) H. Trachtman, B. Gauthier, A. Goldstein and J. Tomczak, "Increased Urinary Nitrite Excretion in Children with Minimal change Nephrotic Syndrome", *J. Pediatr.*, 1996, 128, 173.
- 10) D. L. Granger, R. R. Taintor, K. S. Boockvar and J. B. Hibbs Jr., "Measurement of Nitrate and Nitrite in Biological Samples Using Nitrate Reductase and Griess Reaction", *Methods in Enzymol.*, 1996, 268(A), 142.
- 11) G. Giovannoni, J. M. Land, G. Keir, E. J. Thompson and S. J. R. Heales, "Adaptation of the Nitrate Reductase and Griess reaction Methods for the Measurement of Serum Nitrate Plus Nitrite Levels", *Ann. Clin. Biochem.*, 1997, 34, 193.
- 12) I. Guevara, J. Iwanejko, A. Dembinska-Kiec, J. Pankiewicz, A. Wanat, P. Anna, I. Golabek, S. Bartus, M. Malczewska-Malec and A. Szczudlik, "Determination of Nitrite/Nitrate in Human Biological Material by the Simple Griess Reaction", *Clin. Chem. Acta.*, 1998, 274, 177.

最新の情報は web へ 同仁化学 NK05 で検索

NO₂/NO₃ Assay Kit-FX(Fluorometric) ~ 2,3-Diaminonaphthalene Kit ~

Protocol: 「NO を測定したい」

同仁品コード: NK08
200 tests ¥30,900

キット内容

• Buffer Solution	× 1	• Enzyme Cofactors	× 2
• NaNO ₂ Standard Solution (200μmol/l)	× 2	• Fluorescence Reagent (DAN) Solution	× 1
• NaNO ₃ Standard Solution (200μmol/l)	× 2	• Stop Solution	× 1
• NO ₃ Reductase	× 2		

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符



性質 NO₂/NO₃ Assay Kit-FX は、NO₂⁻ と DAN (2,3-Diaminonaphthalene) の反応を利用して、試料中の NO を蛍光法で間接的に測定するキットである。

一酸化窒素 (NO) は情報伝達物質として多くの生理的現象に関与しているため、NO に関する研究が盛んに行われている。NO は N₂O₃ あるいは N₂O₄ となり水中で加水分解され最終的に NO₂⁻ と NO₃⁻ になるため、NO₂⁻ と同時に NO₃⁻ も測定する必要がある。本キットは還元酵素を含み、NO₃⁻ を

NO₂⁻ に還元できるので NO₂⁻ と NO₃⁻ 両方の濃度測定が可能である。

本キットは 1 ~ 10 μmol/l の濃度領域に適している。

測定波長: λ_{ex}=360 ~ 365 nm *Stop solution 添加後
λ_{em}=450 ~ 465 nm

*測定試料によっては除蛋白用の装置、試薬が必要となる。

*使用方法はプロトコルをご覧ください。

測定原理

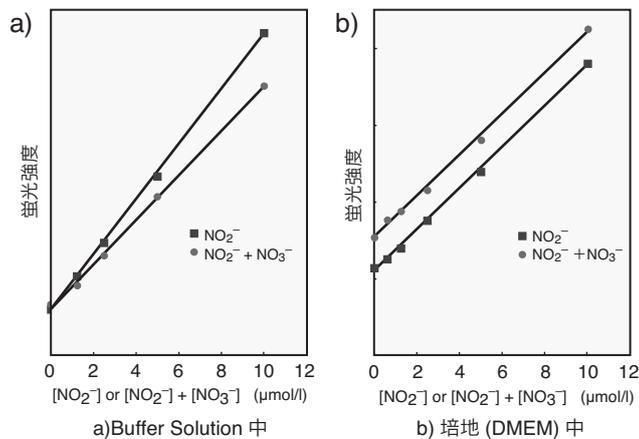
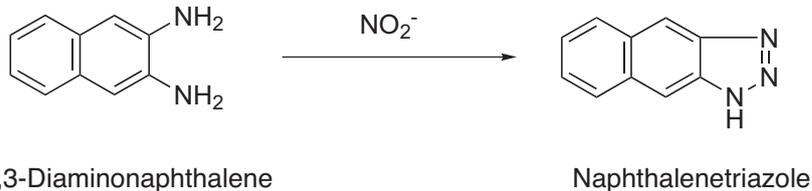


図1 [NO₂⁻] と [NO₂⁻ + NO₃⁻] の検量線

参考文献

- 1) P. Damiani, G. Burini, "Fluorometric Determination of Nitrite", *Talanta*, 1986, 33, 649.
- 2) 向日良夫, 原久子, 谷口寛一, "2,3-ジアミノナフタレンを用いる亜硝酸及び亜硝酸アミルの蛍光定量", *分析化学*, 1991, 40, 105.
- 3) T. P. Misko, R. J. Schilling, D. Salvemini, W. M. Moore and M. G. Currie, "A Fluorometric Assay for the Measurement of Nitrite in Biological Samples", *Anal. Biochem.*, 1993, 214, 11.
- 4) A. H. Cross, T. P. Misko, R. F. Lin, W. F. Hickey, J. L. Trotter and R. G. Tilton, "Aminoguanidine, an Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in SJL Mice", *J. Clin. Invest.*, 1994, 93, 2684.
- 5) D. Salvemini, K. Seibert, J. L. Masferrer, T. P. Misko, M. G. Currie and P. Needleman, "Endogenous Nitric Oxide Enhances Prostaglandin Production in a Model of Renal Inflammation", *J. Clin. Invest.*, 1994, 93, 1940.
- 6) R. G. Tilton, K. Chang, J. A. Corbett, T. P. Misko, M. G. Currie, N. S. Bora, H. J. Kaplan and J. R. Williamson, "Endotoxin-Induced Uveitis in the Rat Is Attenuated by Inhibition of Nitric Oxide Production", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1994, 35, 3278.
- 7) A. Ishikawa, Y. Katano, M. Nakamura, K. Doi, K. Tasaki and A. Ono, "Differential Modulation of Nitric Oxide and Prostacyclin Release in Senescent Rat Heart Stimulated by Angiotensin II", *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 382, 19.
- 8) K. Ohkusu, T. Yoshimoto, K. Takeda, T. Ogura, S. Kashiwamura, Y. Iwakura, S. Akira, H. Okumura and K. Nakanishi, "Potentiality of Interleukin-18 as a Useful Reagent for Treatment and Prevention of Leishmania major Infection", *Infect. Immun.*, 2000, 68, 2449.
- 9) S. Igawa, I. Hayashi, N. Tanaka, H. Himura, M. Majima, T. Kawakami, M. Hirose, N. Masuda and H. Kobayashi, "Nitric Oxide Generated by iNOS Reduces Deformability of Lewis Lung Carcinoma Cells", *Cancer Sci.*, 2004, 95, 342.

最新の情報は web へ で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

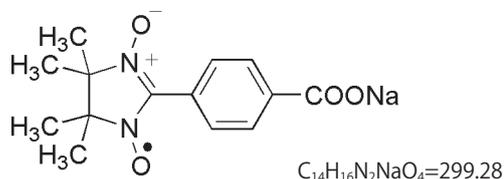
Carboxy-PTIO

2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide, sodium salt
〔CAS No.148819-93-6〕同仁品コード：C348
10 mg ¥13,600 344-07011

Protocol: 「NO を消去したい」

規格	(1) 性状：暗青色～黒色粉末 (2) 純度 (TLC)：97.0% 以上 (3) HEPES 緩衝液溶状：試験適合 (4) Carboxy-PTI 含量 (ESR)：試験適合
溶解例	0.4 mg/ml(20 mmol/l; HEPES buffer, pH7.0), 10 mg/ml(33 mmol/l; Phosphate Buffer, pH7.4)
取扱注意	1. 保存方法：冷凍, 遮光

構造式



性質 Carboxy-PTIO は、 $\cdot\text{NO}$ と選択的に反応して $\cdot\text{NO}_2$ に変換する NO 消去剤である。Carboxy-PTIO 自体も有機ラジカルであるので、ESR によりモニターすることができる。

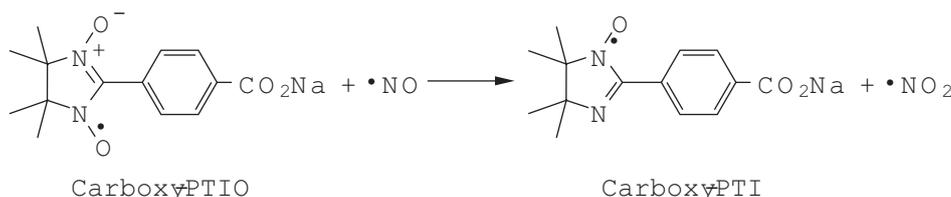
PTIO は、水に難溶性のため、有機溶媒に溶解してから使用するのが一般的である。そのため、動物実験に用いることができなかった。Carboxy-PTIO は、構造内にカルボキシル基を含むため水溶性があり、有機溶媒を使用せずに溶液を調整できる。そのため、生体内で NO をクエンチする目的で使用できるようになった。

生体内の $\cdot\text{NO}$ に関する研究においては NO を消去する事が一つの重要な薬理学的手法である。そのため、これまで NOS インヒビターとしてのアルギニン誘導体が用いられてきた。しかしながら、アルギニン誘導体は NO の発生源そのものを抑えてしまうため、 $\cdot\text{NO}$ のみならずその下

流にある複雑な $\cdot\text{NO}$ 反応系、代謝系を全て消去してしまい、詳細な検討を加えるには問題があった。Carboxy-PTIO は NOS 自体には影響を与えず、発生する $\cdot\text{NO}$ のみを消去する。

赤池らはアセチルコリンで誘導される血管の弛緩に対する Carboxy-PTIO の抑制効果が M^6 -ニトロアルギニンの約 2 倍あると報告しており、また吉田らはこれを用いた NO の抗ウイルス活性の研究で Carboxy-PTIO が $\cdot\text{NO}$ を $\cdot\text{NO}_2$ に変換すると抗ウイルス能が増大することから、この効果が $\cdot\text{NO}$ そのものにあるのではなく、 $\cdot\text{NO}_2$ 以下の代謝物にあると報告している。

$\cdot\text{NO}$ は $\cdot\text{NO}_2$ や ONOO⁻ あるいはニトロソチオールなどの様々な形態に変化し、その各々の生理活性が異なる可能性が指摘されており、NO とそれ以下の反応物を分離して考える必要がある。



参考文献

- 1) E. F. Ullman, J. H. Osieki, D. G. B. Boocock and R. Darcy, "Studies of Stable Free Radicals. X. Nitronyl Nitroxide Monoradicals and Biradicals as Possible Small Molecule Spin Labels", *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, 94, 7049.
- 2) Y. Miura, K. Nakai and M. Kinoshita, "Polymers Containing Stable Free Radicals, 5. Preparation of a Polymer Containing Imidazoline 3-Oxide 1-Oxyl Groups", *Makromol. Chem.*, 1973, 172, 233.
- 3) K. Inoue and H. Iwamura, "Magnetic Properties of the Crystals of *p*-(1-Oxyl-3-Oxide-4,4,5,5-Tetramethyl-2-Imidazolin-2-yl)Benzoic acid and Its Alkali Metal Salts", *Chem. Phys. Lett.*, 1993, 207, 551.
- 4) T. Akaike, M. Yoshida, Y. Miyamoto, K. Sato, M. Kohno, K. Sasamoto, K. Miyazaki, S. Ueda and H. Maeda, "Antagonistic Action of Imidazolineoxyl *N*-Oxides Against Endothelium-Derived Relaxing Factor/NO Through a Radical Reaction", *Biochemistry*, 1993, 32, 827.
- 5) J. Joseph, B. Kalyanaraman and J. S. Hyde, "Trapping of Nitric Oxide by Nitronyl Nitroxides: an Electron Spin Resonance Investigation", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 192, 926.
- 6) M. Yoshida, T. Akaike, Y. Wada, K. Sato, K. Ikeda, S. Ueda and H. Maeda, "Therapeutic Effects of Imidazolineoxyl *N*-Oxide Against Endotoxin Shock Through Its Direct Nitric Oxide-scavenging Activity", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 202, 923.
- 7) T. Az-Ma, K. Fujii and O. Yuge, "Reaction Between Imidazolineoxyl *N*-Oxide(Carboxy-PTIO) and Nitric Oxide Released from Cultured Endothelial Cells:Quantitative Measurement of Nitric Oxide by ESR Spectrometry", *Life Sci.*, 1994, 54, 185.
- 8) H. Maeda, T. Akaike, M. Yoshida and M. Suga, "Multiple Functions of Nitric Oxide in Pathophysiology and Microbiology: Analysis by a New Nitric Oxide Scavenger", *J. Leukoc. Biol.*, 1994, 56(5), 588.
- 9) T. Akaike and H. Maeda, "Quantitation of Nitric Oxide Using 2-Phenyl-4,4,5,5-Tetramethylimidazoline-1-Oxyl 3-Oxide(PTIO)", *Methods Enzymol.*, 1996, 268, 211.
- 10) S. Satoh, T. Kimura, M. Toda, H. Miyazaki, S. Ono, H. Narita, T. Murayama and Y. Nomura, "NO Donors Stimulate Noradrenaline Release from Rat Hippocampus in a Calmodulin-dependent Manner in the Presence of L-Cysteine", *J. Cell. Physiol.*, 1996, 169, 87.
- 11) V. V. Khrantsov, D. I. Utepbbergenov, Ya. Yu. Woldman, L. P. Vlassenko, A. L. Markel, I. A. Kiriljuk, I. A. Grigor'ev, D. G. Mazhukin, A. Ya. Tikhonov and L. B. Volodarsky, "In vitro and in vivo Studies of Derivatives of 1,2-Diazetane and Nitronyl Nitroxide as Donors and Acceptors of Nitric Oxide", *Biochemistry(Moscow)*, 1996, 61(10), 1223.
- 12) D. C. Hooper, O. Bagasra, J. C. Marini, A. Zborek, S. T. Ohnishi, R. Kean, J. M. Champion, A. B. Sarker, L. Bobroski, J. L. Farber, T. Akaike, H. Maeda and H. Koprowski, "Prevention of Experimental Allergic Encephalomyelitis by Targeting Nitric Oxide and Peroxynitrite: Implications for the Treatment of Multiple Sclerosis", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 2528.
- 13) S. Pfeiffer, E. Leopold, B. Hemmens, K. Schmidt, E. R. Werner and B. Mayer, "Interference of carboxy-PTIO with Nitric-Oxide and Peroxynitrite-Mediated Reactions", *Free Radic. Biol. Med.*, 1997, 22, 787.
- 14) Y. Nakashima, H. Yasui and H. Sakurai, "A New Determination Method of Nitric Oxide (NO) with a NO-selective Electrode Demonstrated by the Kinetic Analysis of NO Generation and Decomposition", *Chem. Lett.*, 2002, 12, 1214.

最新の情報は web へ 同仁化学 C348 で検索

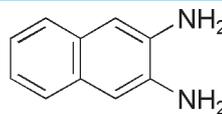
2,3-Diaminonaphthalene(for NO detection)

2,3-Diaminonaphthalene
〔CAS No.771-97-1〕同仁品コード：D418
10 mg ¥5,800 341-07021

- 規格**
- (1) 性状：白色～淡黄褐色粉末
 - (2) 希塩酸溶状：試験適合
 - (3) 融点：185～200℃
 - (4) NO 測定適合性：試験適合
 - (5) IR スペクトル：試験適合

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式

C₁₀H₁₀N₂=158.20

性質 NO の簡便な測定法として Griess 法がよく用いられているが、この 2,3-Diaminonaphthalene はこの Griess 法よりも高感度かつ簡便化できるものである。

2,3-Diaminonaphthalene は酸性条件下で NO₂⁻ と反応しナフタレントリアゾールの蛍光性付加体を形成する。

2,3-Diaminonaphthalene と NO₂⁻ の反応条件については詳細に検討されており、反応は pH2 以下で最も速く、室温で 5 分と短時間であり、生成した付加体は pH10 以上で最も効率よく蛍光を発する。検出限界は Griess 法では数 μmol/l であるが 2,3-Diaminonaphthalene では数十 nmol/l と 50～100 倍高感度である。

極大蛍光波長は 410 nm であるが 450 nm で測定した方がブランクが低く高感度に測定できる。

2,3-Diaminonaphthalene は光に対して敏感な試薬で、著しく着色した市販品ではブランクが高く、この目的では使えない。再結晶や有機溶媒からの抽出が必要である。本 2,3-Diaminonaphthalene は蛍光ブランクが低いため問題なく使用できる。

2,3-Diaminonaphthalene による検量線作成方法

2,3-Diaminonaphthalene 50 μg を 0.62 mol/l の塩酸 1 ml に溶解する。この溶液 10 μl に 0～10 μmol/l の NaNO₂ サンプル溶液 100 μl を入れ、室温で 10～15 分インキュベートし、2.8 mol/l NaOH 溶液 5 μl を加える。この溶液を 100 μl とり、純水で 4 ml に希釈し、λ_{ex}=365 nm, λ_{em}=450 nm にて蛍光測定を行う。

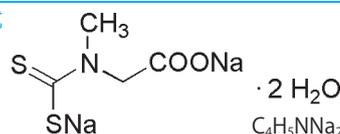
最新の情報は web へ [同仁化学 D418](#) で検索

DTCS Na

N-(Dithiocarboxy)sarcosine, disodium salt, dihydrate
〔CAS No.13442-87-0〕同仁品コード：D465
100 mg ¥11,600 349-07321Protocol: 「NO を *in vivo* ESR で検出したい」

- 規格**
- (1) 性状：白色～微黄色粉末
 - (2) 水溶状：試験適合
 - (3) ナトリウム (Na)：15.0% 以上
- 溶解例** 50 mg/ml(水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵，遮光

構造式

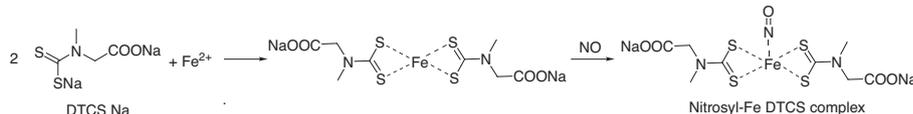
C₄H₅NNa₂O₂S₂·2H₂O=245.23

性質 DTCS の鉄錯体 Fe-(DTCS)₂ は水溶性であり、NO と錯体を形成した NO-Fe-(DTCS)₂ も水溶性となるため、特に NO をトラップしようとする場合に始めから鉄錯体 Fe-(DTCS)₂ を投与することができるという長所を持つ。従来の DTCS はアンモニウム塩であるために、LD₅₀=765 mg/kg (マウス) と毒性が高いが、ナトリウム塩の DTCS (DTCS Na) は LD₅₀=1942 mg/kg と毒性が低減されている。

水溶性の NO-Fe-(DTCS)₂ 錯体は通常の X-band (9 GHz) ではもちろん、L-band ESR で 700 MHz に、DETC や MGD と同様のニトロシル Fe 錯体の窒素の核スピンに基

づく鋭い 3 本線を与える。DTCS は他のジチオカルバメートに比べて、空気中、溶液中でかなり安定であるので、水溶性の Fe 錯体は生化学的にも有効なスピントラップ剤である。

吉村らはマウスの腹腔内で LPS 投与によって誘導された iNOS からの NO を Fe-(DTCS)₂ を用いて、トラップし L-band ESR による *in vivo* イメージングを報告している。DTCS Na を用いた鉄-ジチオカルバメート錯体の調製法についてはプロトコルを、*in vivo* ESR によるイメージングについては吉村らの文献を参照のこと。



参考文献

- 1) 藤井敏司, "鉄 2 価錯体を用いた内因性 NO の ESR による検出", 化学と工業, 1994, 47(10), 1330.
- 2) T. Yoshimura, S. Fujii, H. Yokoyama and H. Kamada, "In vivo Electron Paramagnetic Resonance Imaging of NO-Bound Iron Complex in a Rat Head", *Chem. Lett.*, 1995, 309.
- 3) S. Fujii, G. Miyakoda, M. Chihiro, T. Yoshimura and H. Kamada, "Nitric Oxide Release from Porcine Aorta Endothelial Cells Measured by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy", *Chem. Lett.*, 1996, 1055.
- 4) S. Fujii, T. Yoshimura and H. Kamada, "Nitric Oxide Trapping Efficiencies of Water-soluble Iron(III) Complexes with Dithiocarbamate Derivatives", *Chem. Lett.*, 1996, 785.
- 5) T. Yoshimura, H. Yokoyama, S. Fujii, F. Takayama, K. Oikawa and H. Kamada, "In vivo EPR Detection and Imaging of Endogenous Nitric Oxide in Lipopolysaccharide-treated Mice", *Nature Biotechnology*, 1996, 14, 992.
- 6) B. Kalyanaraman, "Detection of Nitric Oxide by Electron Spin Resonance in Chemical, Photochemical, Cellular, Physiological, and Pathophysiological Systems", *Methods Enzymol.*, 1996, 268(A), 168.
- 7) H. Yokoyama, S. Fujii, T. Yoshimura, H. Ohya-Nishiguchi and H. Kamada, "In vivo ESR-CT Imaging of the Liver in Mice Receiving Subcutaneous Injection of Nitric Oxide-Bound Iron Complex", *Magn. Reson. Imaging.*, 1997, 15, 249.

最新の情報は web へ [同仁化学 D465](#) で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

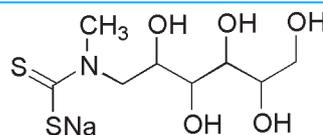
MGD

N-(Dithiocarbamoyl)-*N*-methyl-D-glucamine, sodium salt
〔CAS No.94161-07-6(free acid)〕

同仁品コード：M323
500 mg ￥20,000

規格 (1) 性状：白色結晶性粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) 水溶状：試験適合
溶解例 10 mg/ ml(水)
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

構造式

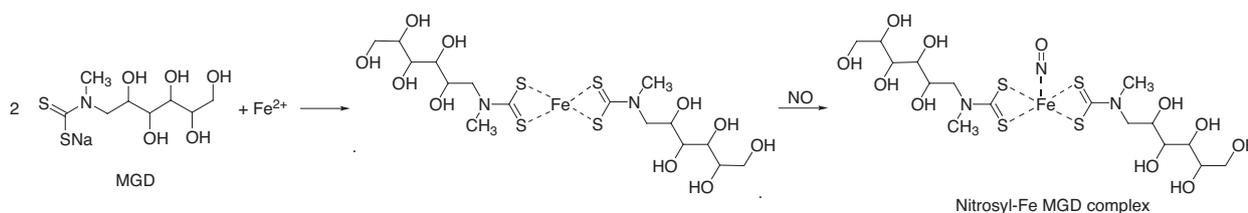

 $C_8H_{16}NNaO_5S_2=293.34$

性質 MGD は、高水溶性のジチオカルバメート型配位子で、鉄イオン、銅イオンを始め多くの遷移金属イオンと錯体を形成する。

Lai らは、1984 年にカドミウム中毒の解毒剤として報告されていた水溶性のジチオカルバメート (MGD) に着目し、この鉄錯体を・NO の検出に応用したところ良い結果を得た。まず、ニトロプルシッドを投与したマウスの *in vivo* ESR から、体内で発生する NO の検出に成功し、次いで LPS 投与下のショック時に産生する NO も *in vivo* ESR で検出した。MGD- 鉄錯体は、高水溶性で生理的条件下で・NO を検出でき、溶存酸素が検出感度に影響しないため、優れた・NO 検出剤と言える。

錯体調整法

Fe(II)(MGD)₂ の水溶液中での安定性はそれほど高くないため、錯体溶液は用時調製が必要である。硫酸第一鉄は酸化されやすいので、少なくとも 30 分間窒素をバブリングした水に溶解し、小分けして凍結保存する。この状態で数ヶ月保存できる。これを、MGD の水溶液あるいは pH7 以上のバッファー溶液に、使用直前に添加する。添加量は、MGD と鉄の比が 5:1 となるように (MGD 過剰) 加える。尚、MGD は、pH7 以下では徐々に分解して二硫化炭素を放出するので注意が必要である。



参考文献

- 1) L. A. Shinobu, S. G. Jones and M. M. Jones, "Sodium *N*-Methyl-D-glucamine dithiocarbamate and Cadmium in toxication", *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1984, 54, 189.
- 2) A. Komarov, D. Mattson, M. M. Jones, P. K. Singh and C. S. Lai, "*In vivo* Spin Trapping of Nitric Oxide in Mice", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 195, 1191.
- 3) 藤井敏司, "鉄 2 価錯体を用いた内因性 NO の ESR による検出", 化学と工業, 1994, 47(10), 1330.
- 4) C. S. Lai and A. M. Komarov, "Spin Trapping of Nitric Oxide Produced *in vivo* in Septic-shock Mice", *FEBS Lett.*, 1994, 345, 120.
- 5) P. Giboreau and C. Morin, "Procedure for the Preparation of Pure Dithiocarbamates", *J. Org. Chem.*, 1994, 59, 1205.
- 6) B. Kalyanaraman, "Detection of Nitric Oxide by Electron Spin Resonance in Chemical, Photochemical, Cellular, Physiological, and Pathophysiological Systems", *Methods Enzymol.*, 1996, 268(A), 168.
- 7) H. Yokoyama, S. Fujii, T. Yoshimura, H. Ohya-Nishiguchi and H. Kamada, "*In vivo* ESR-CT Imaging of the Liver in Mice Receiving Subcutaneous Injection of Nitric Oxide-Bound Iron Complex", *Magn. Reson. Imaging.*, 1997, 15, 249.
- 8) V. D. Mikoyan, L. N. Kubrina, V. A. Serezhenkov, E. N. Burgova, R. A. Stukan and A. F. Vanin, "Hydrophobic and Hydrophilic Fe²⁺ Complexes with Derivatives of Dithiocarbamates as a Traps of Nitric Oxide in Mouse Organism", *BIOFIZIKA*, 1997, 42(2), 490.
- 9) 藤井博匡, "*in vivo* ESR 法による生体内フリーラジカルの検出", 生化学, 1997, 69(4), 250.

最新の情報は web へ [同仁化学 M323](#) で検索

2-3 NO 発生剤

NOR 5

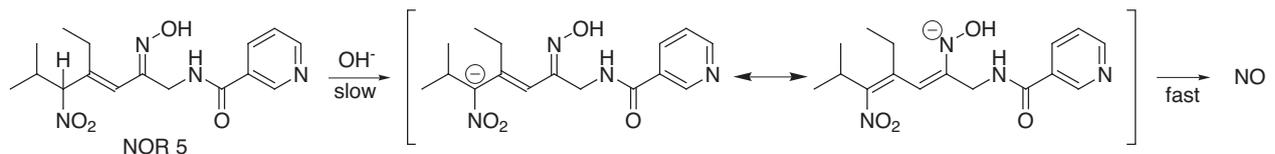
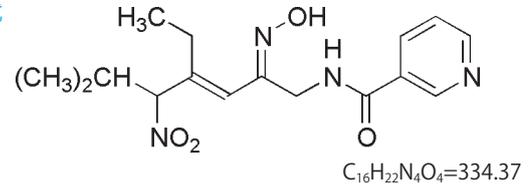
(±)-N-[(E)-4-Ethyl-3-[(Z)-hydroxyimino]-6-methyl-5-nitro-3-heptenyl]-3-pyridinecarboxamide
〔CAS No. 174022-00-5〕

同仁品コード：N448
10 mg ¥12,000 348-08011

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) ジメチルスルホキシド溶液：試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第五類 ニトロ化合物 危等Ⅱ
2. 保存方法：冷凍
- 危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)**



構造式



NORの半減期 (37°C、pH7.4) *NORから放出されるNOをCarboxy-PTIOにてESR法により定量

	NOR 1	NOR 3	NOR 4	NOR 5
半減期 t _{1/2}	1.8 min	30 min	60 min	20 hrs

性質 NORは、NONOateとは異なるタイプのNOドナーである。NORは既存のNOドナーの様な硝酸や亜硝酸部分あるいはNO部分を有しないにも関わらず、NOC同様、系中に純粋なNOを自発的に発生できる。その際、発生するNO量や発生速度もNOC同様コントロールできる。NO放出は完全に自発的で、いかなる代謝系やco-factorも関係しない。また、NO放出後の副生成物に生理活性がないことも分かっており、系中に規定量の純粋なNOを加えることのできる試薬として安心して使用できる。NO発生量もNOCと同様、1モルのNORから1～1.5モルのNOが放出される。

NORは元来、*Streptomyces genseosporeus*の醗酵生成物中の血管弛緩物質として単離されたNOR3(文献中ではFK409と呼ばれているものもある)を基に開発された一連のNOドナーである。その後の研究で、分子内に様々な修飾を施すことによってNO放出速度が自在にコントロ

ルできることがわかり、多くの化合物が開発された。

NOR 5はNO放出剤であるNORシリーズの中で最も遅いNO放出速度を持つドナーである。ラットへの経口投与(10 mg/kg)ではNOR 5は240分後も血圧の低下は見られず、血栓形成抑制作用については、10 mg/kgで37%抑制すると報告されている。

NORのNO放出は、NOCと反対に、低pHになるほど遅くなる。従って、酸性側で安定なNORとアルカリ性側で安定なNOCは、実験系に応じて使い分けられることができる。NORは使用に際しては、DMSOに溶解してその少量をサンプルバッファー溶液に添加する。DMSO中ではかなり安定で、NOガスでは不可能な高度希釈も可能である。従って、NORはNO標準液の作製にも非常に有用であると考えられ、様々なNO測定装置のキャリブレーション用としても使用価値は高い。

参考文献

- 1) Y. Kita, R. Ozaki, S. Sakai, T. Sugimoto, Y. Hirasawa, M. Ohtsuka, H. Senoh, K. Yoshida and K. Maeda, "Antianginal Effects of FK409, a New Spontaneous NO Releaser", *Br. J. Pharmacol.*, 1994, 113, 1137.
- 2) Y. Kita, Y. Hirasawa, K. Yoshida and K. Maeda, "Antiplatelet Activities of FK409, a New Spontaneous NO Releaser", *Br. J. Pharmacol.*, 1994, 113, 385.
- 3) M. Hino, M. Iwami, M. Okamoto, K. Yoshida, H. Haruta, M. Okuhara, J. Hosoda, M. Kohsaka, H. Aoki and H. Imanaka, "FK409, a Novel Vasodilator Isolated from the Acid-treated Fermentation Broth of *Streptomyces Griseosporus* I. Taxonomy, Fermentation, Isolation, and Physico-chemical and Biological Characteristics", *J. Antibiot.*, 1989, XLII(11), 1578.
- 4) S. Shibata, N. Satake, N. Sato, M. Matsuo, Y. Koibuchi and R. K. Hester, "Characteristics of the Vasorelaxing Action of (3E)-4-Ethyl-2-hydroxyimino-5-nitro-3-hexamide FK409, a New Vasodilator Isolated from Microbial Sources, in Isolated Rabbit Arteries", *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1991, 17(3), 508.
- 5) Y. Kita, Y. Hirasawa, K. Maeda, M. Nishio and K. Yoshida, "Spontaneous Nitric Oxide Release Accounts for the Potent Pharmacological Actions of FK409", *Eur. J. Pharmacol.*, 1994, 257, 123.
- 6) J.-L. Decout, B. Roy, M. Fontecave, J.-C. Muller, P. H. Williams and D. Loyaux, "Decomposition of FK409, a New Vasodilator: Identification of Nitric Oxide as Metaborite", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, 5(9), 973.
- 7) S. Fukuyama, Y. Kita, Y. Hirasawa, T. Azuma, A. Sato, N. Morokoshi, S. Koda, T. Yasuda, S. Oka and H. Sakurai, "A New Nitric Oxide (NO) Releaser: Spontaneous NO Release from FK409", *Free Rad. Res.*, 1995, 23(5), 443.
- 8) Y. Kita, K. Ohkubo, Y. Hirasawa, Y. Katayama, M. Ohno, S. Nishino, M. Kato and K. Yoshida, "FR144420, a Novel, Slow, Nitric Oxide-releasing Agent", *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, 275, 125.
- 9) M. Kato, S. Nishino, M. Ohno, S. Fukuyama, Y. Kita, Y. Hirasawa, I. Nakanishi, H. Takasugi and K. Sakane, "New Reagents for Controlled Release of Nitric Oxide. Structure-stability Relationships", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, 6(1), 33.
- 10) Y. Kita, Y. Hirasawa, S. Fukuyama and K. Yoshida, "FK409, a Novel Spontaneous NO Releaser: Comparative Pharmacological Studies with ISDN", *Cardiovasc. Drug. Rev.*, 1996, 14(2), 148.
- 11) Y. Hirasawa, T. Sugimoto, S. Fukuyama, Y. Kato, H. Takamatu, M. Ohno, S. Nishino, M. Kato, K. Maeda, J. Seki and Y. Kita, "Antianginal Effects of FR144420, a Novel Nitric Oxide-releasing Agent", *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 303, 55.
- 12) M. Sato and M. Kawatani, "Nitric Oxide Raises Cytosolic Concentrations of Ca²⁺ in Cultured Nodose Ganglion Neurons from Rabbits", *Neurosci. Lett.*, 1996, 206, 69.
- 13) Y. Kita, Y. Hirasawa, S. Fukuyama, K. Ohkubo, Y. Kato, H. Takamatsu, M. Ohno, S. Nishino, M. Kato and J. Seki, "Oral Biological Activities of Spontaneous Nitric Oxide Releaser are Accounted for by their Nitric Oxide-releasing Rates and Oral Absorption Manners", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 276(2), 421.

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格はHPにてご確認ください。

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

NOR 1

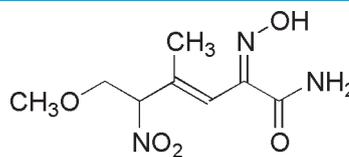
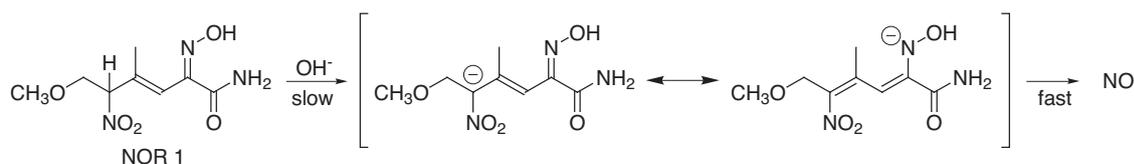
(±)-(E)-4-Methyl-2-[(E)-hydroxyimino]-5-nitro-6-methoxy-3-hexenamide
[CAS No. 163032-70-0]同仁品コード：N388
10 mg ¥12,000 341-06921

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第五類 ニトロ化合物 危等II
2. 保存方法：冷凍

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)



構造式

C₈H₁₃N₃O₅=231.21

NOR 3

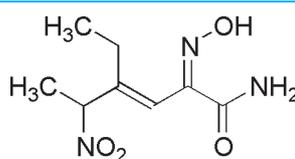
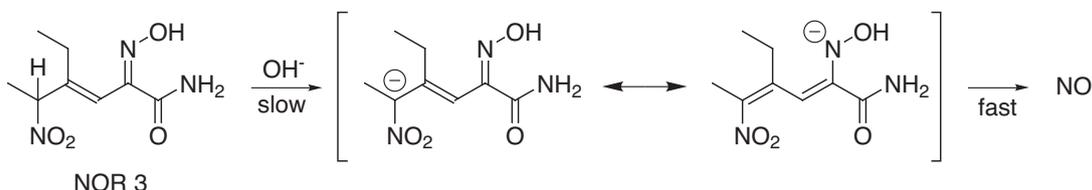
(±)-(E)-4-Ethyl-2-[(E)-hydroxyimino]-5-nitro-3-hexenamide
[CAS No. 138472-01-2]同仁品コード：N390
10 mg ¥12,000 345-06941

- 規格** (1) 性状：白色結晶性粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第五類 ニトロ化合物 危等II
2. 保存方法：冷凍

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)



構造式

C₈H₁₃N₃O₄=215.21

NOR 4

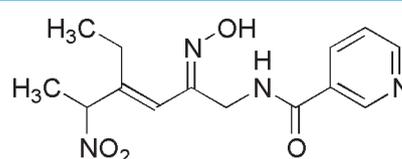
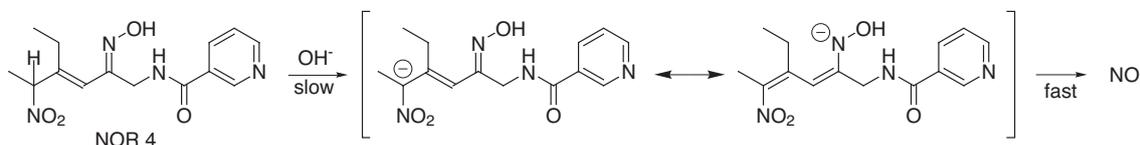
(±)-N-[(E)-4-Ethyl-2-[(Z)-hydroxyimino]-5-nitro-3-hexene-1-yl]-3-pyridinecarboxamide
[CAS No. 162626-99-5]同仁品コード：N391
10 mg ¥16,000 342-06951

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第五類 ニトロ化合物 危等II
2. 保存方法：冷凍

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)



構造式

C₁₄H₁₈N₄O₄=306.32

最新の情報は web へ 同仁化学 NO 発生剤 で検索

NOC 18

1-Hydroxy-2-oxo-3,3-bis(2-aminoethyl)-1-triazene
[CAS No. 146724-94-9]

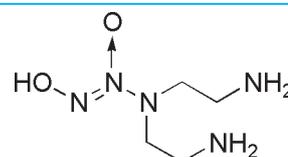
同仁品コード：N379

10 mg ￥11,800 344-06911

50 mg ￥43,100 340-06913

規格 (1) 性状：白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式



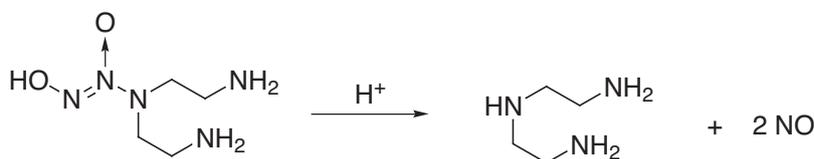
C₄H₁₃N₅O₂=163.18

性質 NOC は、Keefer らにより開発された NO ドナーである。いずれもジアミン、あるいはトリアミンに NO が 2 分子付加した形をとっており、これがバッファー中でその分子特有の速度で放出される。1 モルの分子から、2 モルの NO が放出されるため、既存の NO ドナーに比べ、大量の NO を自発的に発生させることができる。

NOC の NO 発生速度は溶液の pH が低くなるほど速く (NOC は不安定となる)、逆に強アルカリ性ではかなり安定であるので、実験に用いる際には、まず NOC を所定量秤

り取り、0.1 mol/l の水酸化ナトリウム水溶液に溶解して、その一定量をサンプルバッファー中に添加してやればよい。NO 発生は、事実上中性のバッファー (サンプル溶液) に添加された時点から開始される。

NOC は固体状態では安定であるが、長期保存には冷凍が必要である。また、若干の吸湿性があり、吸湿により劣化するので、使用時には完全に室温に戻してから開封すること。なお、溶液はできれば用時調製が望ましい。



NOC 18

NOC の半減期 (37°C, pH7.4) *

	NOC 5	NOC 7	NOC 12	NOC 18
半減期 t _{1/2}	25 min	5 min	100 min	21 hrs

* NOC の分解を吸収スペクトル変化からトレースし定量

参考文献

- 1) J. A. Hrabie, J. R. Klose, D. A. Wink and L. K. Keefer, "New Nitric Oxide-releasing Zwitterions Derived from Polyamines.", *J. Org. Chem.*, 1993, 58, 1472.
- 2) K. Hayashi, N. Noguchi and E. Niki, "Action of Nitric Oxide as a Antioxidant Against Oxidation of Soybean Phosphatidylcholine Liposomal Membrane", *FEBS Lett.*, 1995, 370, 37. (NOC 12)
- 3) S. Shibuta, T. Mashimo, A. Ohara, P. Zhang and I. Yoshiya, "Intracerebroventricular Administration of a Nitric Oxide-releasing Compound, NOC-18, Produces Thermal Hyperalgesia in Rats", *Neurosci. Lett.*, 1995, 187, 103. (NOC 18)
- 4) N. Yamanaka, O. Oda and S. Nagao, "Nitric Oxide Released from Zwitterionic Polyamine/NO Adducts Inhibits Cu²⁺-induced Low Density Lipoprotein Oxidation", *FEBS Lett.*, 1996, 398, 53.
- 5) D. Berendji, V. K-Bachofen, K. L. Meyer, O. Grapenthin, H. Weber, V. Wahn and K.-D. Kroncke, "Nitric Oxide Mediates Intracytoplasmic and Intranuclear Zinc Release", *FEBS Lett.*, 1997, 405, 37.
- 6) T. Ohnishi, T. Ishizaki, F. Sasaki, S. Ameshima, T. Nakai, S. Miyabo and S. Matsukawa, "The Effect of Cu²⁺ on Rat Pulmonary Arterial Rings", *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 319, 49. (NOC 7)
- 7) Y. Adachi, K. Hashimoto, N. Ono, M. Yoshida, M. Suzuki-Kusaba, H. Hisa and S. Satoh, "Renal Effect of a Nitric Oxide Donor, NOC 7, in Anesthetized Rabbits", *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 324, 223. (Noc 7)
- 8) Y. Minamiyama, S. Takemura and M. Inoue, "Effect of Thiol Status on Nitric Oxide Metabolism in the Circulation", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997, 347(1), 186.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

NOC 5

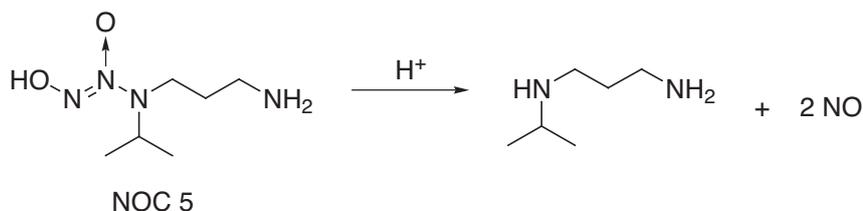
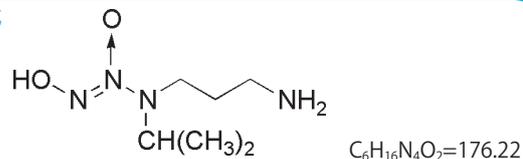
1-Hydroxy-2-oxo-3-(3-aminopropyl)-3-isopropyl-1-triazene
[CAS No. 146724-82-5]

同仁品コード：N380
10 mg ￥11,800 347-06881
50 mg ￥43,100 343-06883

規格 (1) 性状：白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式



NOC 7

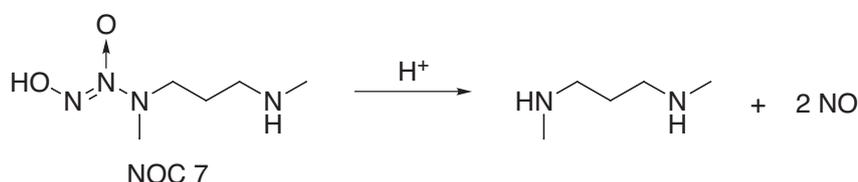
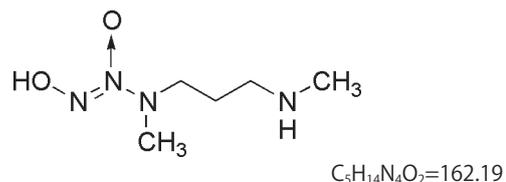
1-Hydroxy-2-oxo-3-(*N*-methyl-3-aminopropyl)-3-methyl-1-triazene
[CAS No. 146724-84-7]

同仁品コード：N377
10 mg ￥11,800 344-06891
50 mg ￥43,100 340-06893

規格 (1) 性状：白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式



NOC 12

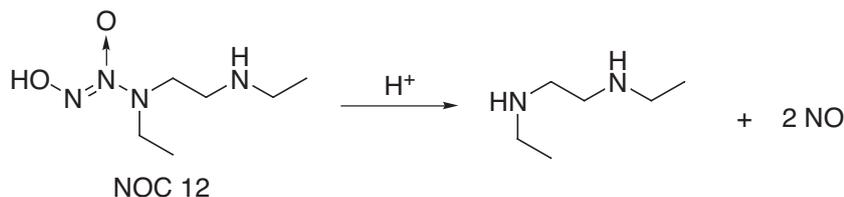
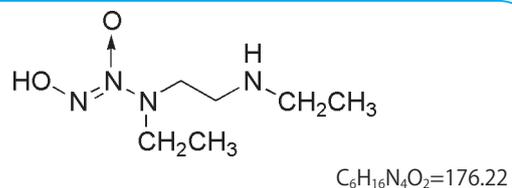
1-Hydroxy-2-oxo-3-(*N*-ethyl-2-aminoethyl)-3-ethyl-1-triazene
[CAS No. 146724-89-2]

同仁品コード：N378
10 mg ￥11,800 347-06901
50 mg ￥43,100 343-06903

規格 (1) 性状：白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式

最新の情報は web へ [同仁化学 NO発生剤](#) で検索

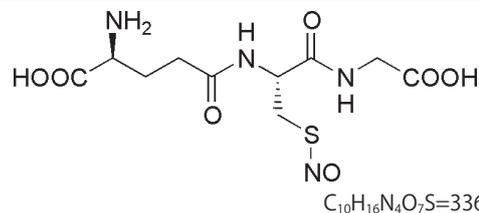
S-Nitrosoglutathione

N-(*N*-L-γ-Glutamyl-S-nitroso-L-cysteiny)glycine
〔CAS No. 57564-91-7〕

同仁品コード：N415
25 mg ￥15,900 347-07361
100 mg ￥37,100 343-07363

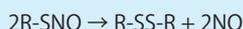
規格	(1) 性状：桃色粉末 (2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上 (3) 水溶状：試験適合 (4) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
溶解例	25 mg/ml(水)、10 mg/ml(ジメチルスルホキシド)
取扱注意	1. 保存方法：冷凍

構造式

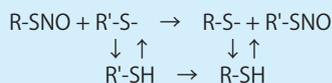


性質 S-Nitrosoglutathione は生体内で広く存在する glutathione から誘導されたニトロソチオールであり、生体内での NO ドナー、あるいは生理活性物質として働いていると考えられる。

ニトロソチオールは下式の様に NO を発生してジスルフィドを生じる。この反応は光や熱によって加速されることが知られている。S-Nitrosoglutathione を 37°C でインキュベートし TMA-PTIO を用いて ESR によって放出される NO を追跡した場合、NO 放出は自発的には起こらないが、ランプによって光を当てると放出が起こることが確認されている。



またこの分解反応には金属イオンが重要な因子となる。Cu²⁺(Cu⁺) や Hg²⁺ が触媒となって加速することは良く知られており、逆に EDTA などこれら金属をマスクすると分解は非常に遅くなる。他の金属イオンについては Zn²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Ni²⁺、Co²⁺、Mn²⁺、Cr²⁺、Fe³⁺ では影響はなく、Fe²⁺ に触媒作用があることが報告されている。



一方でニトロソチオールのもう一つの重要な反応はニトロソ基の転移であり、上式のように他のチオールをニトロソ化する。この反応はチオールの pK_a に依存するため、生理的な pH でも容易に起こりうる。これらの速度定数と平衡定数も報告されている。

これらのニトロソチオールの弛緩力の比較はラット大動脈リング標本の実験系では SNAP > GSNO = SNAC(S-Nitroso-N-acetylcysteine) > CoACNO(S-Nitroso-coenzyme A) ≧ S-Nitroso-L-cysteine と報告されている。また血小板の凝集阻害においては GSNO > NO > SNAP > SIN-1 との報告がある。

ニトロソチオールの弛緩作用については、一般に言われているような自発的に放出される NO とは無関係で、これが平滑筋の膜部分で代謝されて細胞内に伝わるのが大切であるという報告もある。

また Park らは S-Nitrosoglutathione が麻酔下にイヌ (0.2 mg/kg) 及びサル (10 mg/kg) の血圧を低下させ、Radomski らは血小板の凝集阻害を起こすことを報告している。

参考文献

- 1) A. Gibson, R. Babbedge, S. R. Brave, S. L. Hart, A. J. Hobbs, J. F. Tucker, P. Wallace and P. K. Moore, "An Investigation of Some S-Nitrosothiols, and of Hydroxy-arginine, on the Mouse *Anococcygeus*", *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 107, 715.
- 2) M. W. Radomski, D. D. Rees, A. Dutra and S. Moncada, "S-Nitroso-glutathione Inhibits Platelet Activation *in Vitro* and *in Vivo*", *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 107, 745.
- 3) R. M. Clancy and S. B. Abramson, "Novel Synthesis of S-Nitrosoglutathione and Degradation by Human Neutrophils", *Anal. Biochem.*, 1992, 204, 365.
- 4) J.-W. Park, G. E. Billman and G. E. Means, "Transnitrosation as a Predominant Mechanism in the Hypotensive Effect of S-Nitrosoglutathione", *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1993, 30(5), 885.
- 5) D. Barrachina, S. Calatayud, J. Esplugues, Brendan J. R. Whittle, S. Moncada and J. V. Esplugues, "Nitric Oxide Donors Preferentially Inhibit Neuronally Mediated Rat Gastric Acid Secretion", *Eur. J. Pharmacol.*, 1994, 262, 181.
- 6) E. A. Konorev, M. M. Tarpey, J. Joseph, J. E. Baker and B. Kalyanaraman, "S-Nitrosoglutathione Improves Functional Recovery in the Isolated Rat Heart After Cardioplegic Ischemic Arrest-evidence for a Cardioprotective Effect of Nitric Oxide", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1995, 274(1), 200.
- 7) S. C. Askew, D. J. Banett, J. McAninly and D. L. H. Williams, "Catalysis by Cu²⁺ of Nitric Oxide Release from S-Nitrosothiols (RSNO)", *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, 1995, 741.
- 8) D. J. Banett, A. Rios and D. L. H. Williams, "NO-group Transfer(Transnitrosation) between S-Nitrosothiols and Thiols. Part 2", *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, 1995, 1279.
- 9) J. G. D. Man, B. Y. De. Winter, G. E. Boeckstaens, A. G. Herman and P. A. Pelckmans, "Effect of Cu²⁺ on Relaxations to the Nitroergic Neurotransmitter, NO and S-Nitrosothiols in the Rat Gastric Fundus", *Br. J. Pharmacol.*, 1996, 119(5), 990.
- 10) A. P. Dicks and D. L. H. Williams, "Generation of Nitric Oxide from S-Nitrosothiols Using Protein-bound Cu²⁺ Sources", *Chem. Biol.*, 1996, 3, 655.
- 11) J. A. Cook, S. Y. Kim, D. Teague, M. Murali, C. Krishna, R. Pacelli, A. M. Miles, M. B. Grisham and D. A. Wink, "Convenient Colorimetric and Fluorometric Assays for S-Nitrosothiols", *Anal. Biochem.*, 1996, 238, 150.
- 12) 赤池孝章, "ニトロソチオールの検出法", *Dojin News*, 1997, 84, 11.
- 13) S. X. L. Liu, Bo Xuan, Z. Chen, R. S. Varma and G. C. Y. Chiou, "Nitric Oxide Donors: Effects of S-Nitrosoglutathione and 4-Phenyl-3-furoxanarbonitrile on Ocular Blood Flow and Retinal Function Recovery", *J. Ocul. Pharmacol. Therapeut.*, 1997, 13(2), 105.
- 14) C. Alpert, N. Ramdev, D. George and J. Loscalzo, "Detection of S-Nitrosothiols and Other Nitric Oxide Derivatives by Photolysis-chemiluminescence Spectrometry", *Anal. Biochem.*, 1997, 245, 1.
- 15) T. Akaike, K. Inoue, T. Okamoto, H. Nishino, M. Otagiri, S. Fujii and H. Maeda, "Nanomolar Quantification and Identification of Various Nitrosothiols by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Flow Reactors of Metals and Griess Reagent", *J. Biochem.*, 1997, 122, 459.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル
化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

Peroxynitrite 溶液

Peroxynitrite in NaOH solution

同仁品コード：P332
1 ml × 5 ￥25,400 (送料込み)

規格 (1) 性状：淡黄色液体
(2) 濃度：45 mmol/l 以上
取扱注意 1. 安衛法, 2. 保存方法：冷凍 (-80℃)

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符



性質 Peroxynitrite は、生体内において NO とスーパーオキシドとの反応によって生成され、神経系などにおいて NO とは異なった生理活性を有することが報告されている。Peroxynitrite は、生体内においては半減期 1.9 秒であるが、アルカリ溶液中では比較的安定であり、その物理化学的特性については多くの報告がある。

Peroxynitrite は、酸性領域においては速やかに硝酸イオンに分解するが、アルカリ領域ではゆっくりと、亜硝酸イオンに分解する。この分解過程は、プロトン化した Peroxynitrite (Peroxy-nitrous acid) との反応により Nitrosyldioyl radical を経て、NO と酸素分子となる。さらに生成した NO と亜硝酸ラジカルにより亜硝酸イオンへと分解すると説明されている。プロトン化した Peroxynitrite は、分子コンフォメーションの違いにより、硝酸を発生するものとヒドロキシラジカルを発生するものがある。すなわち、分子が *cis* 型をとっている場合、分子内転移を起こして硝酸が発生し、*trans* 型をとった場合ホモリティックに分解してヒドロキシラジカルを生成すると考えられ、Peroxynitrite からのヒドロキシラジカル様の酸化体を発生するとの報告もある。しかし、ヒドロキシラジカルの生成に関しては、まだ検討の余地も多く熱力学的見地からは考えにくいとの報告もある。

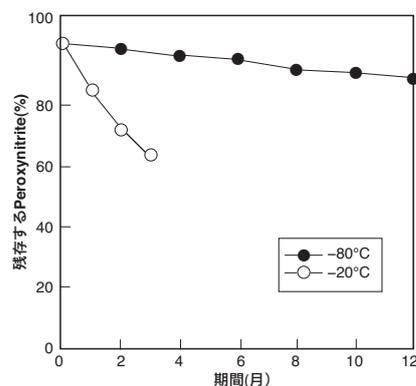
【濃度算出方法】

Peroxynitrite 溶液を 0.1 mol/l NaOH 溶液で 100 倍に希釈し、300 nm 付近の極大吸収波長で吸光度を測定し、モル吸光係数【1670 mol⁻¹/cm⁻¹】より正確な濃度を算出することができる。

[濃度 (mmol/l)] = (吸光度 / 1670) × 100 × 1000]

【使用方法と特別注意事項】

- アルカリ溶液 (1 mmol/l NaOH 等) または buffer 溶液で希釈して使用する。希釈後は直ちに使用すること。
- 長期間の保存は、-80℃ 以下または液体窒素中での保存が望ましい。
- 本製品は冷凍 (-20℃) 条件下でも経時的に劣化する (下図 < 冷凍保存での安定性 > 参照)。
- 80℃ 以下での保存が難しい場合は、できるだけ早く使用すること。
- 凍結・解凍の繰り返しは、劣化を促すので避けること。
- アルカリ性溶液につき、取扱いに十分注意する。



Peroxynitrite 溶液の冷凍保存 (-80℃, -20℃) での安定性

最新情報は web へ [同仁化学 P332](#) で検索

参考文献

- J. J. Moreno and W. A. Pryor, "Inactivation of A1-Proteinase Inhibitor by Peroxynitrite", *Chem. Res. Toxicol.*, 1992, 5(3), 425.
- R. E. Huie and S. Padmaja, "The Reaction of NO with Superoxide", *Free Rad. Res. Commun.*, 1993, 18, 195.
- D. S. Bohle, B. Hansert, S. C. Paulson and B. D. Smith, "Biomimetic Synthesis of the Putative Cytotoxin Peroxynitrite, ONOO⁻, and Its Characterization as a Tetramethylammonium Salt", *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 7423.
- J. O. Edwards and R. C. Plumb, "The Chemistry of Peroxynitrites", *Prog. Inorg. Chem.*, 1994, 41, 599.
- H. Ischiropoulos and A. B. Al-Mehdi, "Peroxynitrite-mediated Oxidative Protein Modifications", *FEBS Lett.*, 1995, 364, 279.
- J. T. Groves, N. Sudhakar and S. Marla, "Peroxynitrite-induced DNA Strand Scission Mediated by a Manganese Porphyrin", *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 9578.
- A. F. Huhmer, C. R. Nishida, P. R. Ortiz de Montellano and C. Schoneich, "Inactivation of the Inducible Nitric Oxide Synthase by Peroxynitrite", *Chem. Res. Toxicol.*, 1997, 10(5), 618.
- J. M. Fukuto and L. J. Ignarro, "In vivo Aspects of Nitric Oxide (NO) Chemistry: Does Peroxynitrite(OONO⁻) Play a Major Role in Cytotoxicity", *Accounts of Chemical Research*, 1997, 30(4), 149.
- 川西正祐, 井上純子, "活性酸素と NO による DNA 損傷", *生化学*, 1997, 69(8), 1014.
- S. Pfeiffer, A. C. F. Gorren, K. Schmidt, E. R. Werner, B. Hansert, D. S. Bohle and B. Mayer, "Metabolic Fate of Peroxynitrite in Aqueous Solution", *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 3465.
- T. Okamoto, T. Akaike, T. Nagano, S. Miyajima, M. Suga, M. Ando, K. Ichimori and H. Maeda, "Activation of Human Neutrophil Procollagenase by Nitrogen Dioxide and Peroxynitrite: A Novel Mechanism for Procollagenase Activation Involving Nitric Oxide", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997, 342(2), 261.
- T. Akaike, S. Okamoto, T. Sawa, J. Yoshitake, F. Tamura, K. Ichimori, K. Miyazaki, K. Sasamoto and H. Maeda, "8-Nitroguanosine Formation in Viral Pneumonia and Its Implication for Pathogenesis" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 685.

SIN-1

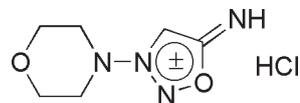
3-(4-Morpholinyl)sydnominine, hydrochloride
〔CAS No. 16142-27-1〕同仁品コード：S264
25 mg ¥13,600 342-06831

規格 (1) 性状：白色～微黄白色針状結晶又は結晶性粉末
(2) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
(3) 融点：180～190℃(分解)

溶解例 10 mg/ml(メチルアルコール)

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式

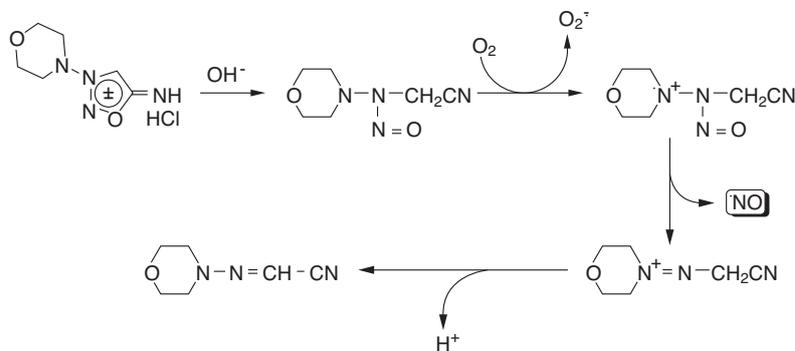
C₆H₁₁ClN₄O₂=206.63

性質 SIN-1 は系中に peroxynitrite(ONOO⁻)を放出する試薬である。peroxynitrite は、NO とスーパーオキシドとの反応によって形成されるといわれ、非常に酸化力の強い化学種である。神経系などにおいて peroxynitrite が NO とは異なった生理活性を有することが報告され、両者を区別することができる実験系があれば、情報伝達系の理解に有用であると考えられている。

SIN-1 は血管拡張薬の molsidomine の中間代謝物で、以

下のスキームにより中性水溶液中で自発的にスーパーオキシドと一酸化窒素を放出し、その後両者は速度定数 $3.7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$ で結合して peroxynitrite になるといわれる。

SIN-1 から peroxynitrite ができることは、peroxynitrite の分解反応により発生するヒドロキサイドラジカルの生成を確認することで間接的に確かめられている。すなわち、デオキシリボースからはマロンジアルデヒドが生成し、安息香酸からはフェノール性蛍光体が生成する。



参考文献

- 1) M. Feelisch, J. Ostrowski and E. Noack, "On the Mechanism of NO Release from Sydnonimines", *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1989, 14, S13.
- 2) M. Feelisch, "The Biochemical Pathways of Nitric Oxide Formation from Nitrovasodilators: Appropriate Choice of Exogenous NO Donors and Aspects of Preparation and Handling of Aqueous NO Solutions", *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1991, 17, S25.
- 3) N. Hogg, V. M. Darley-Usmar, M. T. Wilson and S. Moncada, "Production of Hydroxyl Radicals from the Simultaneous Generation of Superoxide and Nitric Oxide", *Biochem. J.*, 1992, 281, 419.
- 4) M. E. Murphy and J. E. Brayden, "Nitric Oxide Hyperpolarizes Rabbit Mesenteric Arteries via ATP-sensitive Potassium Channels", *J. Physiol.*, 1995, 486(1), 47.
- 5) 青柳一正, "腎疾患", 臨床検査, 1996, 40(2), 188.
- 6) 川西正祐, 井上純子, "活性酸素と NO による DNA 損傷", 生化学, 1997, 69(8), 1014.
- 7) H. Kankaanranta, R. G. Knowles, P. Vuorinen, O. Kosonen, P. Holm and E. Moilanen, "3-Morpholino-sydnominine-induced Suppression of Human Neutrophil Degranulation in Not Mediated by Cyclic GMP, Nitric Oxide or Peroxynitrite: Inhibition of the Increase in Intracellular Free Calcium Concentration by *N*-Morpholinoiminoacetoni", *Mol. Pharmacol.*, 1997, 51(5), 882.
- 8) S. Yamamoto, S. Nishizawa, T. Yokoyama, H. Ryu and K. Uemura, "Subarachnoid Hemorrhage Impairs Cerebral Blood Flow Response to Nitric Oxide but Not to Cyclic GMP in Large Cerebral Arteries", *Brain Res.*, 1997, 757, 1.
- 9) S. Pfeiffer, E. Leopold, B. Hemmens, K. Schmidt, E. R. Werner and B. Mayer, "Interference of carboxy-PTIO with Nitric-oxide and Peroxynitrite-mediated Reactions", *Free Radic. Biol. Med.*, 1997, 22, 787.
- 10) M. B. Herrero, E. de Lamirande and C. Gagnon, "Tyrosine Nitration in Human Spermatozoa: A Physiological Function of Peroxynitrite, the Reaction Product of Nitric Oxide and Superoxide", *Mol. Hum. Reprod.*, 2001, 7, 913.
- 11) P. D. Lu, C. Jousse, S. J. Marciniak, Y. Zhang, I. Novoa, D. Scheuner, R. J. Kaufman, D. Ron and H. P. Harding, "Cytoprotection by Pre-emptive Conditional Phosphorylation of Translation Initiation Factor 2", *EMBO J.*, 2004, 23, 169.

最新の情報は web へ [同仁化学 S264](#) で検索

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

2-4 NOS 阻害剤

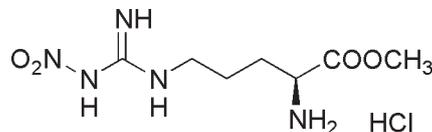
L-NAME

*N*⁶-Nitro-L-arginine methyl ester, hydrochloride
〔CAS No. 51298-62-5〕

同仁品コード：N412
1 g ¥10,000 340-07231

規格 (1) 性状：白色粉末又は結晶性粉末
(2) 水溶状：試験適合
(3) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
溶解例 > 10 mg/ml (水)
取扱注意 1. 危険物第五類 ニトロ化合物 危等II
2. 保存方法：冷蔵
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

構造式



C₇H₁₆ClN₅O₄=269.69



性質 L-NAME は広く用いられている NOS 阻害剤の一つで、例えばラットエンドトキシショックモデルの重篤な

血圧低下に対して有効 (1 mg/kg i.v.) であることが報告されている。

参考文献

最新の情報は web へ [同仁化学 N412](#) で検索

- 1) G. A. Gray, C. Schott, Geraldine, Julou-Schaeffer, I. Fleming, J. R. Parratt and J.-C. Stoclet, "The Effect of Inhibitors of the L-Arginine/Nitric Oxide Pathway on Endotoxin-induced Loss of Vascular Responsiveness in Anaesthetized Rats", *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 103, 1218.
- 2) M. G. Belvisi, D. Stretton and P. J. Barnes, "Nitric Oxide as an Endogenous Modulator of Cholinergic Neurotransmission in Guinea-pig Airways", *Eur. J. Pharmacol.*, 1991, 198, 219.
- 3) P. K. Moore, A. O. Oluyomi, R. C. Babbedge, P. Wallace and S. L. Hart, "L-*N*⁶-Nitro Arginine Methyl Ester Exhibits Antinociceptive Activity in the Mouse", *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 102, 198.
- 4) S. M. Gardiner, A. M. Compton, P. A. Kemp and T. Bennett, "Effects of *N*⁶-Nitro-L-arginine Methyl Ester or Idomethacin on Differential Regional and Cardiac Haemodynamic Actions of Arginine Vasopressin and Lysine Vasopressin in Conscious Rats", *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 102, 65.
- 5) T. B. Macall, M. Feelisch, R. M. J. Palmer and S. Moncada, "Identification of *N*'-Iminoethyl-L-ornithine as an Irreversible Inhibitor of Nitric Oxide Synthase in Phagocytic Cells", *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 102, 234.
- 6) P. Kubes, M. Suzuki and D. N. Granger, "Nitric Oxide: An Endogenous Modulator of Leukocyte Adhesion", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 4651.
- 7) B. Heinzel, M. John, P. Klatt, E. Bohme and B. Mayer, "Ca²⁺/Calmodulin-dependent Formation of Hydrogen Peroxide by Brain Nitric Oxide Synthase", *Biochem. J.*, 1992, 281, 627.
- 8) B. L. Tepperman and B. D. Soper, "Interaction of Nitric Oxide and Salivary Gland Epidermal Growth Factor in the Modulation of Rat Gastric Mucosal Integrity", *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 110, 229.
- 9) K. Kumagai, H. Suzuki, M. Ichikawa, M. Jinbo, M. Murakami, M. Ryuzaki and T. Saruta, "Nitric Oxide Increases Renal Blood Flow by Interacting with the Sympathetic Nervous System", *Hypertension*, 1994, 24(2), 220.
- 10) L. Yu, P. E. Gengar, M. Niederberger, T. J. Burke and R. W. Schrier, "Nitric Oxide: A Mediator in Rat Tubular Hypoxia/Reoxygenation Injury", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 1691.
- 11) C. Baylis, S. Masilamani, G. Losonczy, L. Samsell, P. Harton and K. Engels, "Blood Pressure (BP) and Renal Vasoconstrictor Responses to Acute Blockade of Nitric Oxide: Persistence of Renal Vasoconstriction Despite Normalization of Bp with Either Verapamil or Sodium Nitroprusside", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1995, 274(3), 1135.
- 12) T. T. Ma, H. Ischiropoulos and C. A. Brass, "Endotoxin-Stimulated Nitric Oxide Production Increases Injury and Reduces Rat Liver Chemiluminescence During Reperfusion", *Gastroenterology*, 1995, 108, 463.
- 13) J. C. Simmons and R. H. Freeman, "L-Arginine Analogues Inhibit Aldosterone Secretion in Rats", *Am. J. Physiol.*, 1995, 268(5Pt2), R1137.
- 14) Hyeyoung Kim and Kyung Hwan Kim, "Effects of a Nitric Oxide Donor and Nitric Oxide Synthase Inhibitors on Acid Secretion of Isolated Rabbit Gastric Glands", *Pharmacol.*, 1996, 53, 331.
- 15) O. W. Griffith and R. G. Kilbourn, "Nitric Oxide Synthase Inhibitors: Amino Acids", *Methods Enzymol.*, 1996, 268(A), 375.

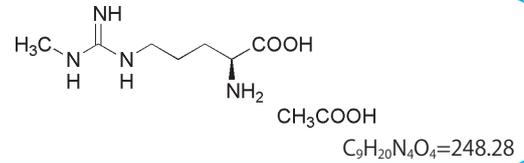
L-NMMA

*N*⁶-Monomethyl-L-arginine, acetate
〔CAS No. 53308-83-1〕

同仁品コード：N411
25 mg ¥7,900 345-07161

規格 (1) 性状：白色粉末又は結晶性粉末
(2) 水溶状：試験適合
(3) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
溶解例 > 10 mg/ml (水)
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

構造式



性質 L-NMMA はアセチルコリンに誘導されたラット大動脈リングの弛緩阻害において、濃度依存的に麻酔下のラットの平均血圧を上昇させるほか、中枢機能に関しても、小脳

の長期抑圧が L-NMMA によって阻害されることも報告されている。

参考文献

最新の情報は webへ で検索

- 1) D. D. Rees, R. M. J. Palmer, H. F. Hodson and S. Moncada, "A Specific Inhibitor of Nitric Oxide Formation from L-Arginine Attenuates Endothelium-Dependent Relaxation", *Br. J. Pharmacol.*, 1989, 96, 418.
- 2) D. D. Rees, R. M. J. Palmer, R. Schultz, H. F. Hodson and S. Moncada, "Characterization of Three Inhibitors of Endothelial Nitric Oxide Synthase *in Vitro* and *in Vivo*", *Br. J. Pharmacol.*, 1990, 101, 746.
- 3) A. Gibson, S. Mirzazadeh, A. J. Hobbs and P. K. Moore, "L-*N*⁶-Monomethyl Arginine and L-*N*⁶-Nitro Arginine Inhibit Non-adrenergic, Non-cholinergic Relaxation of the Mouse Anococcygeus Muscle", *Br. J. Pharmacol.*, 1990, 99, 602.
- 4) N. M. Olken, K. M. Rusche, M. K. Richards and M. A. Marletta, "Inactivation of Macrophage Nitric Oxide Synthase Activity by *N*⁶-Methyl-L-arginine", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991, 177(2), 828.
- 5) N. M. Olken and M. A. Marletta, "*N*-Methyl-L-arginine Functions as an Alternate Substrate and Mechanism-based Inhibitor of Nitric Oxide Synthase", *Biochemistry*, 1993, 32, 9677.
- 6) K. P. J. O'kane, D. J. Webb, J. G. Collier and P. J. T. Vallance, "Local L-*N*⁶-Monomethyl-arginine Attenuates the Vasodilator Action of Bradykinin in the Human Forearm", *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1994, 38(4), 311.
- 7) D. W. Reif and Sally A. McCreedy, "*N*-Nitro-L-arginine and *N*-Monomethyl-L-arginine Exhibit a Different Pattern of Inactivation toward the Three Nitric Oxide Synthases", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, 320, 170.

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

2-5 ACE 阻害剤活性測定用

ACE Kit - WST

同仁品コード：A502
100 tests ¥70,000

Protocol: 「ACE 阻害活性を測定したい」

キット内容

[100 tests]

• Substrate Buffer	1 ml × 2	• Enzyme C	× 2
• Enzyme A	× 2	• Coenzyme	× 2
• Enzyme B	× 2	• Indicator Solution	5 ml × 2

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

性質 本キットはアンジオテンシンⅠ変換酵素 (ACE) の阻害活性を測定するためのキットである。

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Ⅰから昇圧作用を有するアンジオテンシンⅡを生成し、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与している酵素である。近年、高血圧予防を目的とした数多くの機能食品 (特定保健用食品) が販売されるなど、ACE 阻害作用を有する食品成分が注目を集めている。

従来、ACE 阻害活性は合成基質 Hippuryl-His-Leu 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ことで算出される。しかし、酢酸エチルのような有害な有機溶媒を用いることと、操作が煩雑であり測定誤差が生じやすい方法であるため改良が望まれていた。

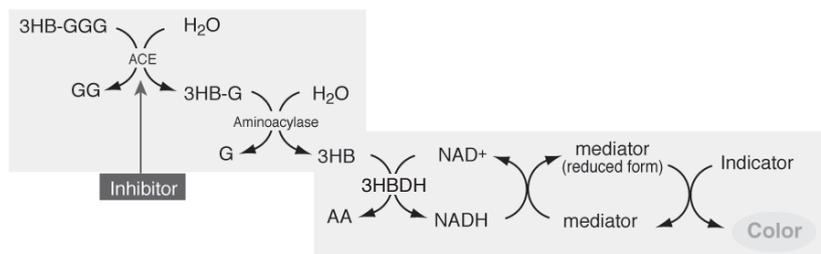
本キットは 3-Hydroxybutyryl-Gly-Gly-Gly (3HB-GGG) から切り出されてくる 3-Hydroxybutyric acid (3HB) を酵素法により検出するもので、96 穴マイクロプレートに対応しており、一度に多検体の測定が可能である。また、有害な有機溶媒を使用しないので、安全で迅速・簡便であり、再現性の高い測定方法である。Alauddin らは加工豆乳に含まれる ACE 阻害性ペプチドに着目しラットを用いた実験にて血圧上昇の改善効果があることを、また、Nakabayashi らはアスパラガス中の Asparaptine に ACE 阻害効果があることを報告している。

測定波長：450 nm

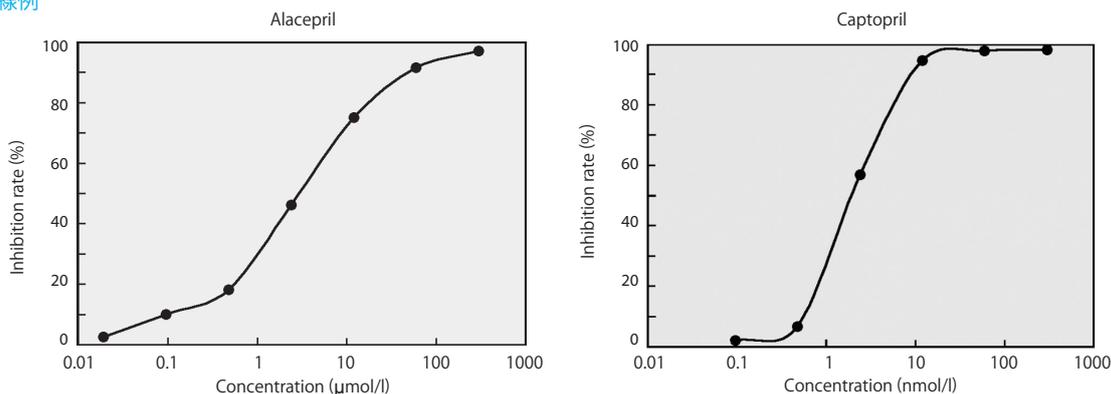
測定可能なサンプル数

希釈率 (1, 1/5, 1/5², 1/5³, 1/5⁴, 1/5⁵) で n=3 で測定する場合、4 サンプル測定できる。

* 使用方法はプロトコルをご覧ください。



阻害曲線例



参考文献

- 1) L. H. Lam, T. Shimamura, K. Sakaguchi, K. Noguchi, M. Ishiyama, Y. Fujimura and H. Ukeda, "Assay of angiotensin I-converting enzyme-inhibiting activity based on the detection of 3-Hydroxybutyric acid", *Anal. Biochem.*, 2007, 364, 104.
- 2) L. H. Lam, T. Shimamura, S. Manabe, M. Ishiyama and H. Ukeda, "Assay of Angiotensin I-converting Enzyme-inhibiting Activity Based on the Detection of 3-Hydroxybutyrate with Water-soluble Tetrazolium Salt", *Anal. Sci.*, 2008, 24, 1057.
- 3) 浅尾浩史 他, "ヤマトトウキの調製過程におけるアンジオテンシンⅠ変換酵素 (ACE) 阻害活性と品質特性の変化", 近畿中国四国農研究, 2010, 17, 9.
- 4) C. C. Lau, N. Abdullah and A. S. Shuoib, "Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from an edible mushroom, *Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller identified by LC-MS/MS", *BMC Complement. Altern. Med.*, 2013, 13, 313.
- 5) K. Yamaki, "Screening Research Methods for α -glucosidase Inhibitors and Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors in Fermented Soybean Products and Fermented Milk Products", *JARQ*, 2014, 48, 41.
- 6) R. Nakabayashi, Z. Yang, T. Nishizawa, T. Mori and K. Saito, "Top-down Targeted Metabolomics Reveals a Sulfur-Containing Metabolite with Inhibitory Activity against Angiotensin-Converting Enzyme in *Asparagus officinalis*", *J. Nat. Prod.*, 2015, 78(5), 1179.
- 7) M. Alauddin, H. Shirakawa, K. Hiwatashi, A. Shimakage, S. Takahashi, M. Shinbo and M. Komaia, "Processed soymilk effectively ameliorates blood pressure elevation in spontaneously hypertensive rats", *J. Funct. Foods.*, 2015, 14, 126.

最新の情報は web へ 同仁化学 A502 で検索

2-6 生体硫黄解析用試薬・キット

-SulfoBiotics- SSP4

同仁品コード：SB10
1 mg ¥29,000

3',6'-Di(*O*-thiosalicyl)fluorescein

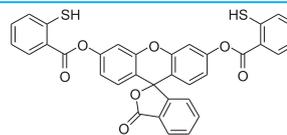
Protocol: 「サルフェン硫黄を検出したい」

規格 (1) 性状：白色～淡黄色粉末又は固体
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上

溶解例 1 mg/ml (DMSO)

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式

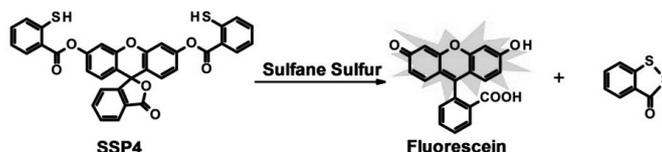
C₃₄H₂₀O₇S₂=604.65

性質 近年、硫黄原子が連結したパースルフィドやポリスルフィドのようなサルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur) を含む分子種が生体内に多く存在していることが明らかにされている。このような分子種は、硫化水素の産生や貯蔵、放出だけでなく、*S*-スルフヒドリル化などのタンパク質内チオールをターゲットとしたシグナル伝達にも関与していることが示唆されており、非常に注目されている。SSP4 (Sulfane Sulfur Probe 4) は、サルフェン硫黄と特異的に反応して強い蛍光を発する試薬であり、サルフェン硫黄の蛍光検出や細胞内解析に利用することが可能である。

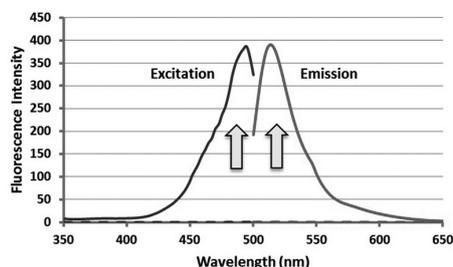
※サルフェン硫黄とは、硫黄原子にのみ共有結合した硫黄の総称である。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

検出原理



サルフェン硫黄との反応による SSP4 の蛍光スペクトル変化



※ SSP4 10 μmol/l (PBS) にサルフェン硫黄ドナーである Na₂S₃(Sodium trisulfide) を添加 (終濃度 100 μmol/l)

参考文献

- 1) W. Chen, C. Liu, B. Peng, Y. Zhao, A. Pacheco and M. Xian, "New fluorescent probe for sulfane sulfurs and the application in bioimaging", *Chem. Sci.*, 2013, 4, 2892.
- 2) T. Ida, T. Sawa, H. Ihara, Y. Tsuchiya, Y. Watanabe, Y. Kumagai, M. Suematsu, H. Motohashi, S. Fujii, T. Matsunaga, M. Yamamoto, K. Ono, N. O. Devarie-Baez, M. Xian, J. M. Fukuto and T. Akaike, "Reactive cysteine persulfides and *S*-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2014, 111, 7606.
- 3) E. Marutani, M. Sakaguchi, W. Chen, K. Sasakura, J. Liu, M. Xian, K. Hanaoka, T. Nagano, and F. Ichinose, "Cytoprotective effects of hydrogen sulfide-releasing *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonists mediated by intracellular sulfane sulfur", *Med. Chem. Commun.*, 2014, 5, 1577.
- 4) M. Sakaguchi, E. Marutani, H-S. Shin, W. Chen, K. Hanaoka, M. Xian and F. Ichinose, "Sodium Thiosulfate Attenuates Acute Lung Injury in Mice", *Anesthesiology*, 2014, 121, 1248
- 5) Y. Kimura, Y. Toyofuku, S. Koike, N. Shibuya, N. Nagahara, D. Lefer, Y. Ogasawara, and H. Kimura, "Identification of H₂S₃ and H₂S produced by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase in the brain", *Sci Rep.*, 2015, 5, 14774.
- 6) E. DeLeon, Y. Gao, E. Huang, M. Arif, N. Arora, A. Divietro, S. Patel, K. Olson, "A case of mistaken identity: are reactive oxygen species actually reactive sulfide species?", *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2016, 310(7), R549.
- 7) P. Yadav, M. Martinov, V. Vitvitsky, J. Seravalli, R. Wedmann, M. Filipovic, and R. Banerjee, "Biosynthesis and Reactivity of Cysteine Persulfides in Signaling", *J Am Chem Soc.*, 2016, 138 (1), 289.
- 8) A. Moustafa, Y. Habara, "Reciprocal interaction among neurotransmitters in isolated pancreatic β -cells", *Free Radic. Biol. Med.*, 2016, 90, 47.
- 9) A. Moustafa and Y. Habara, "Crosstalk between polysulfide and nitric oxide in rat peritoneal mast cells", *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2016, 310, (11), C894.
- 10) E. R. DeLeon, Y. Gao, E. Huang, M. Arif, N. Arora, A. Divietro, S. Patel, and K. R. Olson, "A case of mistaken identity: are reactive oxygen species actually reactive sulfide species?", *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2015, 310, (7), 549.
- 11) N. Takahashi, *FY Wei*, S. Watanabe, M. Hirayama, Y. Ohuchi, A. Fujimura, T. Kaitsuka, I. Ishii, T. Sawa, H. Nakayama, T. Akaike and K. Tomizawa, "Reactive sulfur species regulate tRNA methylthiolation and contribute to insulin secretion", *Nucleic Acids Res.*, 2017, 45 (1), 435.

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

性質 近年、硫化水素 (H₂S) が、血管拡張や細胞保護、インスリン分泌や神経伝達調節など様々な生理活性を示すことが明らかにされ、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に続く重要なシグナル分子として注目されている。

硫化水素は、NO や CO と同様にガス状分子として認知されていますが、その pK_a は約 7 であり生理的 pH では約 80% が硫化水素イオン (HS⁻) の状態で存在する。また、硫化水素イオンは、生体内で様々な結合形態や構造をとるため、その作用機序の詳細に関して未だ不明であり、硫化水素を中心とした硫黄の生体内機能の解明が待ち望まれている。

-SulfoBiotics- HSip-1 及び HSip-1 DA は、硫化水素と反応し強い蛍光 (λ_{ex} 491 nm, λ_{em} 516 nm) を生じ、生体内に豊富に存在するグルタチオンやシステインとは反応せず高い硫化水素特異性を持つ。

-SulfoBiotics- HSip-1 は、硫化水素を定量できる。
-SulfoBiotics- HSip-1 DA は、細胞膜透過性を持つため、細胞内硫化水素を蛍光モニターできる。

※ HSip-1、HSip-1 DA は、東京大学大学院 薬学系研究科 長野哲雄先生、花岡健二郎先生の指導の下、製品化した。

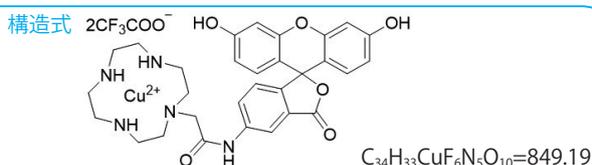
Protocol: 「硫化水素を検出したい」

-SulfoBiotics- HSip-1

同仁品コード: SB21
1 mg ¥20,000

N-[3',6'-Dihydroxy-3-oxo-3*H*-spiro(isobenzofuran-1,9'-xanthen)-5-yl]-
(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-acetamide-κ *N*¹, κ *N*⁴, κ *N*⁷, κ *N*¹⁰)copper(2+) bis(trifluoroacetate)
[CAS No. 1346220-52-7 (free base)]

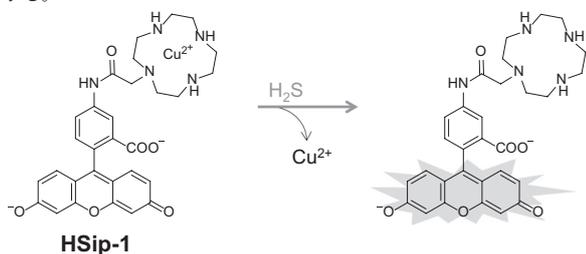
規格 (1) 性状: 褐色〜緑褐色固体
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上
(3) 性能試験: 試験適合



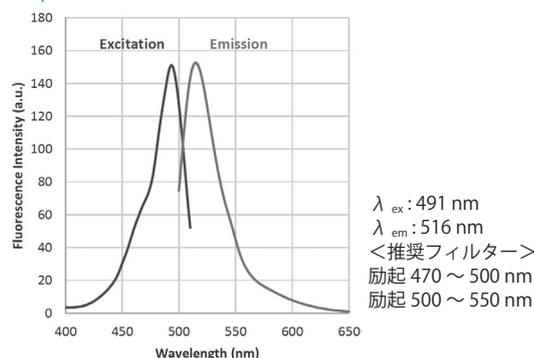
(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理

-SulfoBiotics- HSip-1 は優れた硫化水素選択性を持つ銅 (II) イオンキレート型の蛍光試薬である。硫化水素にのみ反応し強い蛍光 (λ_{ex} 491 nm, λ_{em} 516 nm) を発する。



HSip-1 の蛍光特性

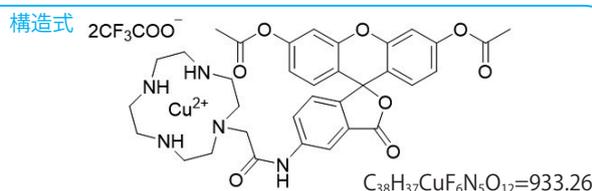


-SulfoBiotics- HSip-1 DA

同仁品コード: SB22
50 µg ¥18,000

N-[3',6'-Bis(acetyloxy)-3-oxo-3*H*-spiro(isobenzofuran-1,9'-xanthen)-5-yl]-
(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-acetamide-κ *N*¹, κ *N*⁴, κ *N*⁷, κ *N*¹⁰)copper(2+) bis(trifluoroacetate)
[CAS No. 1346170-03-3 (free base)]

規格 (1) 性状: 青色固体
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上
(3) 性能試験: 試験適合

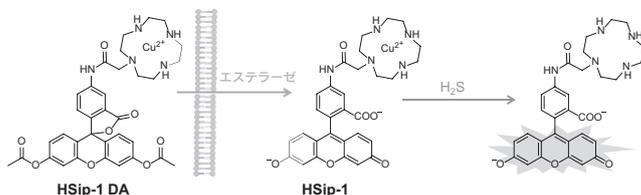


取扱注意 1. 安衛法
2. 保存方法: 冷蔵

(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理

-SulfoBiotics- HSip-1 DA は、細胞膜透過後の硫化水素への高い選択性と蛍光反応性から、細胞内硫化水素の蛍光検出を実現できる。



最新の情報は web へ [同仁化学 SB21/SB22](#) で検索

-SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kit

同仁品コード：SB11
5 samples ¥18,000**Protocol:** 「タンパク質・SH基の数を知りたい」

Protein-SHifter	× 5
Reaction Buffer A	× 1
Reaction Buffer B	× 1

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵, 2. 吸湿注意
PRTR法：第1種指定化学物質

危険・有害性シンボルマーク (GHS表示)



性質 タンパク質のチオール基修飾は、代表的な翻訳後修飾の一つであり、生体内のレドックス変化に応答して生じる。チオール基の翻訳後修飾によるタンパク質の機能制御を理解するためには、個々のチオール基の酸化還元状態を検出することが必要不可欠となる。

-SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kitを用い

て、タンパク質のチオール基の数を電気泳動法により可視化することが可能である。マレイミド基を有する Protein-SHifter はタンパク質のチオール基と結合し、1分子の Protein-SHifter が結合することでラベル化されたタンパク質は分子質量約 15 kDa 増加したバンドとして分離・検出される。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

-SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kit Plus

同仁品コード：SB12
5 samples ¥23,000
20 samples ¥50,000**Protocol:** 「タンパク質・SH基の数を知りたい」

	[5 samples]	[20 samples]
Protein-SHifter Plus	× 5	× 20
Reaction Buffer A	× 1	× 4
Reaction Buffer B	× 1	× 4
Lysis Buffer	× 1	× 4

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵, 2. 吸湿注意
PRTR法：第1種指定化学物質

危険・有害性シンボルマーク (GHS表示)



性質 -SulfoBiotics- Protein Redox State Monitoring Kit Plus を用いて、タンパク質のチオール基の数を電気泳動法により可視化することが可能である。マレイミド基を有する Protein-SHifter Plus はタンパク質のチオール基と結合し、1分子の Protein-SHifter Plus が結合することでラベル化されたタンパク質は分子質量約 15 kDa 増加したバンド

として分離・検出される。更に、Protein-SHifter Plus は光分解機能を有するため、電気泳動後のゲルに UV 光を照射することで、ラベル化されたタンパク質から切り離される。そのため、ラベル化する前と同様にウェスタンブロットに適用可能である。(*ラベル化の操作は動物細胞用に最適化されている。)

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

参考文献

- 1) S. Hara, T. Nojima, K. Seio, M. Yoshida and T. Hisabori, "DNA-maleimide: An improved maleimide compound for electrophoresis-based titration of reactive thiols in a specific protein" *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, 1830(4), 3077.
- 2) S. Hara, Y. Tatenaka, Y. Ohuchi and T. Hisabori, "Direct determination of the redox status of cysteine residues in proteins *in vivo*", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, 456(1) 339.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

-SulfoBiotics- PEG-PCMal

Protocol: 「タンパク質のSH基の数を知りたい」

同仁品コード: SB20
1 mg ¥8,000
1 mg × 10 ¥50,000

規格 (1) 性状: 微黄色～淡黄褐色粉末又は固体
(2) 性能試験: 試験適合

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光

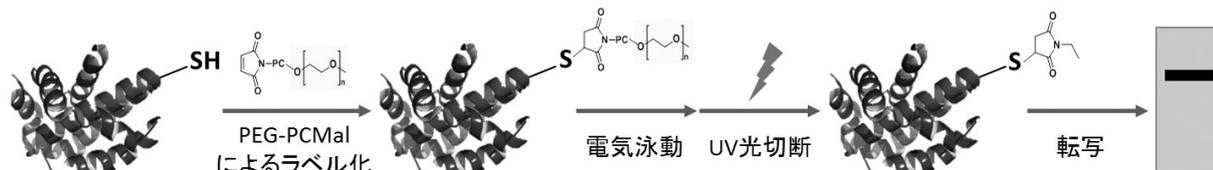
性質 タンパク質のチオール基修飾は、代表的な翻訳後修飾の一つであり、生体内のレドックス変化に应答して生じる。チオール基の翻訳後修飾によるタンパク質の機能制御を理解するためには、個々のチオール基の酸化還元状態を検出することが必要不可欠となる。

チオール基の酸化還元状態を検出する手法の一つに、チオール基と反応する高分子マレイミド試薬を用いてゲル電気泳動によるゲルシフトアッセイ法が利用されているが、この手法を用いることでタンパク質中のフリーのチオール基数を可視化することができる。高分子マレイミド試薬である *-SulfoBiotics-* PEG-PCMal を用いた場合、タンパク質中のチオール基数に応じた数の PEG-PCMal が結合するが、1分子の PEG-PCMal が結合することで、そのタンパク質は分子質量約 5 kDa 増加したバンドとして分離・検出される。

また、従来より PEG 鎖の片方の末端にマレイミド基を

有する PEG-マレイミド試薬が、上記のゲルシフトアッセイ法に用いられているが、ウエスタンブロットを行う際、PEG 鎖が結合したタンパク質は結合していないタンパク質と比べて、ゲルからメンブレンへの転写効率が低くなる、また、抗体認識能が低くなる、という課題がある。*-SulfoBiotics-* PEG-PCMal は、PEG 鎖とマレイミド基の間のリンカー内に光切断 (Photo Cleavable) 部位を導入した試薬で、電気泳動後のゲルに UV 光を照射するとラベル化されたタンパク質から PEG 鎖が切り離される。これによって、このタンパク質はウエスタンブロットの操作において PEG 鎖の影響を受けることなく解析することができる。なお、本品は 1 mg 小分け品であることから、細胞や植物など試料に応じて試薬の使用量を設定することができる。

(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

PEG-PCMal によるチオールの修飾および分離・転写イメージ

PEG 鎖の片方にマレイミド基を有する PEG-PCMal (上図) は、タンパク質中のチオール基と結合する。PEG-PCMal でラベル化したタンパク質を電気泳動した後、ゲルに UV 光を照射するとタンパク質から PEG 鎖が切り離され、ウエスタンブロットの転写効率を損なわず解析することができる。

測定操作

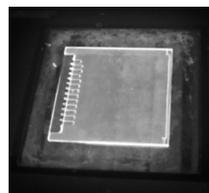
Step1
タンパク質を含む
サンプル溶液に
PEG-PCMal 溶液を添加



Step2
37°C インキュベート
(ラベル化)



Step3
ゲル電気泳動



Step4
電気泳動後のゲル
(ガラスプレート付) に
UV 照射 (トランス
イルミネーター)



Step5
メンブレンに転写後、抗
体を用いてタンパク質
を検出

参考文献

- 1) L. Makmura, M. Hamann, A. Areopagita, S. Furuta, A. Muñoz and J. Momand, "Development of a sensitive assay to detect reversibly oxidized protein cysteine sulfhydryl groups", *Antioxid. Redox Signal.*, 2001, 3 (6), 1105.
- 2) HH Wu, J.A. Thomas and J. Momand, "p53 protein oxidation in cultured cells in response to pyrrolidine dithiocarbamate: a novel method for relating the amount of p53 oxidation *in vivo* to the regulation of p53-responsive genes", *Biochem. J.*, 2000, 351, 87.
- 3) JR. Burgoyne, O. Oviolu and P. Eaton., "The PEG-switch assay: A fast semi-quantitative method to determine protein reversible cysteine oxidation", *J Pharmacol Toxicol Methods.*, 2013, 68 (3), 297.
- 4) L. JTetsch, C. Koller, A. Dönhöfer and K. Jung, "Detection and function of an intramolecular disulfide bond in the pH-responsive CadC of *Escherichia coli*", *BMC Microbiol.*, 2011, 11, 74.
- 5) K.Yamauchi, "Redox status of serum a polipoprotein E and its impact on HDL cholesterol levels", *Clin. Biochem.*, 2017, 50, 777.

最新の情報は web へ [同仁化学 SB20](#) で検索

-SulfoBiotics- Biotin-HPDP(WS) solution同仁品コード：SB17
500 µl ¥20,000

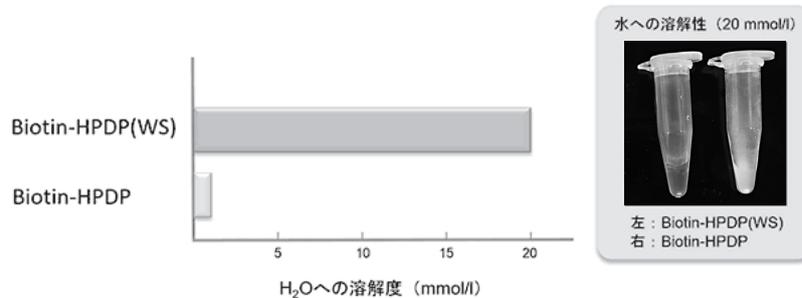
- 規格** (1) 性状：無色～微黄色液体
(2) 性能試験：試験適合
(3) 含量：0.400～0.440
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

性質 -SulfoBiotics- Biotin-HPDP(WS) solution は、ニトロシル化、スルフヒドリル化、パルミトイル化などのタンパク質チオール修飾の解析法として知られている Biotin switch 法に適用される試薬である。本品を用いることで Biotin switch 法でタンパク質のスルフヒドリル (SH) 基にジスルフィド結合を介してビオチンを導入後、ストレプトアビジン固定化樹脂と還元剤を用いてビオチンラベル化タンパク質を精製することができる。従来より、Biotin switch 法には Biotin-HPDP が汎用されているが、Biotin-HPDP は溶媒に

対する溶解性が非常に低く、DMSO、DMF などの有機溶媒を用いて溶解する必要があった。そのため、有機溶媒を用いず、また、ビオチン化試薬の濃度を高くしてビオチン化反応をしたい、という要望が存在していた。-SulfoBiotics- Biotin-HPDP(WS) solution は、水への溶解性を飛躍的に向上したことで Biotin-HPDP の課題を克服した製品である。また、20 mmol/l の水溶液タイプのため、試薬の溶解操作も不要である。

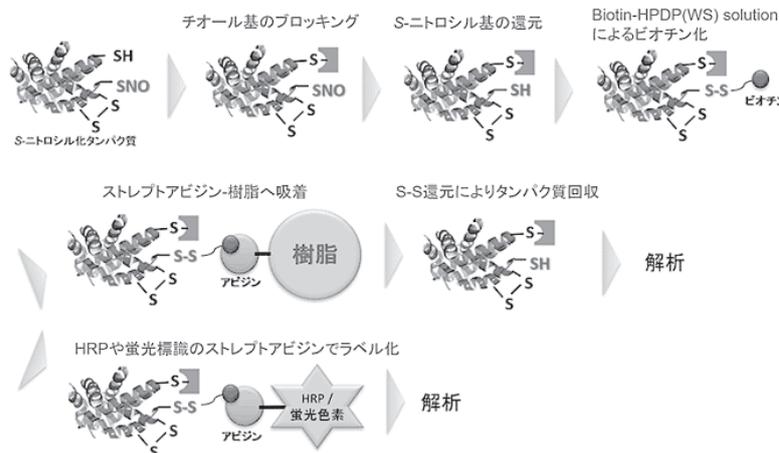
(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

試薬の溶解性の比較



各試薬にその濃度が 20 mmol/l となるように水を加えたところ、Biotin-HPDP(WS) は水に溶解して澄明な溶液となったが、Biotin-HPDP は不溶であった (上写真)。Biotin-HPDP(WS) では高濃度の水溶液を調製することが可能なことから、タンパク質のビオチン化反応に有機溶媒を一切使用する必要がない。Biotin-HPDP(WS) solution は、20 mmol/l の水溶液タイプであり、ビオチン化反応に使用するバッファーに必要な量の Biotin-HPDP(WS) solution を添加・希釈するだけであるため、試薬の溶解操作も不要である。

Biotin-HPDP(WS) solution を用いたタンパク質内 S-ニトロシル基の回収・検出原理



Biotin switch 法は、S-ニトロシル化以外にも他のチオール基修飾にも応用されている。

- 参考文献 1)-4): ニトロシル化
参考文献 5): パルミトイル化
参考文献 6): スルフヒドリル化

参考文献

- 1) S. R. Jaffrey and Solomon H. Snyder, "The biotin switch method for the detection of S-nitrosylated proteins", *Sci. STKE*, 2001, 86, pl1.
- 2) X. Wang, N. Kettenhofen, S. Shiva, N. Hogg, and M. Gladwin, "Copper dependence of the biotin switch assay: modified assay for measuring cellular and blood nitrosated proteins", *Free Radic. Biol. Med.*, 2008, 44, 1362.
- 3) M. T. Forrester, M. W. Foster, M. Benhar, and J. S. Stamler, "Detection of protein S-nitrosylation with the biotin switch technique", *Free Radic. Biol. Med.*, 2009, 46(2), 119.
- 4) M. D. Kornberg, N. Sen, M. R. Hara, K. R. Juluri, J. V. K. Nguyen, A. M. Snowman, L. Law, L. D. Hester, and S. H. Snyder, "GAPDH mediates nitrosylation of nuclear proteins", *Nat. Cell Biol.*, 2010, 12(11), 1094.
- 5) J. Wan, A. F. Roth, A. O. Bailey, and N. G. Davis, "Palmitoylated proteins: purification and identification", *Nat. Protoc.*, 2007, 1573.
- 6) A. K. Mustafa, M. M. Gadalla, N. Sen, S. Kim, W. Mu, S. K. Gazi, R. K. Barrow, G. Yang, R. Wang, and S. H. Snyder, "H₂S signals through protein S-sulfhydration", *Sci. Signal.*, 2009, 2(96), ra72.

最新の情報は web へ で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

-SulfoBiotics- Protein S-Nitrosylation Monitoring Kit

同仁品コード：SB14
20 samples ¥59,000

キット内容

Protein-SHifter Plus	× 20	Lysis Buffer	× 1
Reaction Buffer	A × 1	Blocking Stock Solution	× 1
Reaction Buffer	B × 1	Reducing Agent	× 5

取扱注意 1. 危険物第四類 第三石油類 危険等級Ⅲ,
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷蔵, 4. 吸湿注意
PRTR法：第1種指定化学物質

危険・有害性シンボルマーク (GHS表示)

どくろ 健康有害性 環境


性質 タンパク質のチオール基修飾は、代表的な翻訳後修飾の一つであり、生体内のレドックス変化にตอบสนองして生じる。

タンパク質 S- ニトロシル化反応は、一酸化窒素 (NO) によって起こる重要な翻訳後修飾であり、転写やタンパク質発現、シグナル伝達などの様々な細胞機能の制御に関与していることが明らかにされている。

-SulfoBiotics- Protein S-Nitrosylation Monitoring Kit は、タンパク質内の S- ニトロシル基をゲル電気泳動法によって解析するためのキットである。

本キットには、タンパク質内遊離チオール基のブロッキング剤、S- ニトロシル基の選択的還元剤および S- ニトロシル基還元後のチオール基のラベル化剤が含まれている。

タンパク質内の遊離チオール基をブロックした後、S- ニトロシル基をキット付属の還元剤によって選択的に還元する。その後、新規の高分子マレイミド試薬 Protein-SHifter Plus によってタンパク質をラベル化し、ゲル電気泳動法によって解析する。ラベル化されたタンパク質は、Protein-SHifter Plus 1 分子あたり分子質量が約 15 kDa 増加したバンドとして分離・検出されるため、S- ニトロシル基の数に応じたバンドシフトが得られる。また、Protein-SHifter Plus は光分解能を有するため、電気泳動後のゲルに UV 光を照射することによってラベル化されたタンパク質から切り離される。そのため、ラベル化する前と同様に目的タンパク質をウェスタンブロットで検出することが可能である。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

測定原理

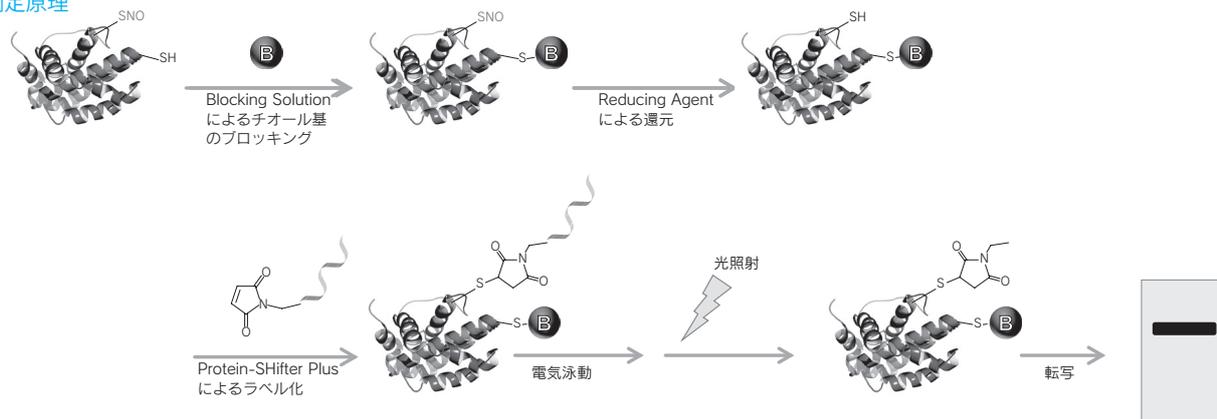


図1 本キットを用いたタンパク質内 S- ニトロシル基の検出原理

検出例

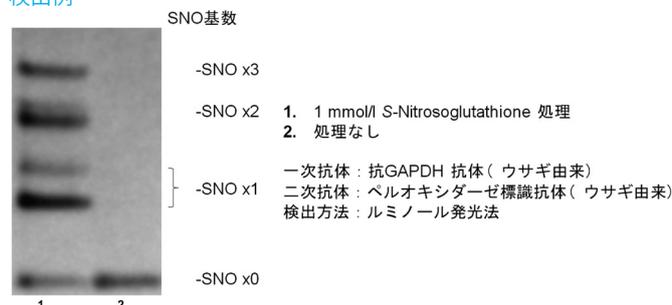


図2 HeLa 細胞溶解液中の GAPDH S- ニトロシル化の解析

参考文献

最新の情報は web へ [同仁化学 SB14](#) で検索

- 1) S. Hara, Y. Tatenaka, Y. Ohuchi and T. Hisabori, "Direct determination of the redox status of cysteine residues in proteins *in vivo*", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, 456(1) 339.
- 2) X. Wang, N. Kettenhofen, S. Shiva, N. Hogg, and M. Gladwin, "Copper dependence of the biotin switch assay: modified assay for measuring cellular and blood nitrosated proteins", *Free Radic. Biol. Med.*, 2008, 44, 1362.
- 3) M. T. Forrester, M. W. Foster, M. Benhar, and J. S. Stamler, "Detection of Protein S-Nitrosylation with the Biotin Switch Technique", *Free Radic. Biol. Med.*, 2009, 46(2), 119.
- 4) M. D. Kornberg, N. Sen, M. R. Hara, K. R. Juluri, J. V. K. Nguyen, A. M. Snowman, L. Law, L. D. Hester, and S. H. Snyder, "GAPDH Mediates Nitrosylation of Nuclear Proteins", *Nat. Cell Biol.*, 2010, 12(11), 1094.

2-7 生体硫黄研究用ドナー類

-SulfoBiotics- Sodium Polysulfide Set

同仁品コード：SB13
100 mg × 3 ￥12,000**Protocol:** 「サルフェン硫黄を系の中に加えたい」

セット内容

- SB02 -SulfoBiotics- Sodium disulfide (Na₂S₂) 100 mg × 1
- SB03 -SulfoBiotics- Sodium trisulfide (Na₂S₃) 100 mg × 1
- SB04 -SulfoBiotics- Sodium tetrasulfide (Na₂S₄) 100 mg × 1

規格 (1) Sodium disulfide (Na₂S₂): 試験適合
(2) Sodium trisulfide (Na₂S₃): 試験適合
(3) Sodium tetrasulfide (Na₂S₄): 試験適合

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光, 2. 吸湿注意

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
腐食性

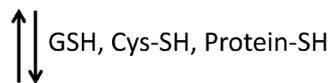
性質 近年、硫黄原子が連結したパーサルフィドやポリスルフィドのようなサルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur) を含む分子種が生体内に多く存在していることが明らかにされています。このような分子種は、硫化水素の産生や貯蔵、放出だけでなく、S-スルフヒドリル化などのタンパク質内チオールをターゲットとしたシグナル伝達にも関与していることが確認されており、非常に注目されています。また、パーサルフィドやポリスルフィドは、一般的な還元物質であるシステインやグルタチオンよりも還元能が非常に高いため、抗酸化物質として機能している可能性も示唆されています。

Sodium polysulfide (Na₂S_n) は、サルフェン硫黄を含む分子として最も単純な構造を有するサルフェン硫黄ドナーであり、水溶液中では各 pK_a に応じて Hydrogen polysulfide (anion) として存在します。本試薬類は、パーサルフィドやポリスルフィドのようなサルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur) を含む分子種の生体内機能の解明や解析に有用です。

※サルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur): 硫黄原子のみ共有結合した硫黄の総称

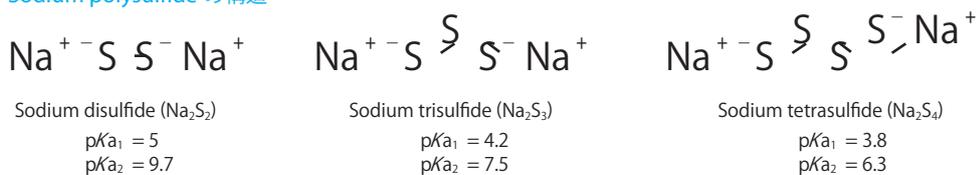
(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

生体内に存在するサルフェン硫黄含有分子種



※生体内のサルフェン硫黄含有分子種は、酸化還元および転移によって変化する

Sodium polysulfide の構造

※ pK_a 値は下記の文献を参照J. Gun et al., "Electrospray Ionization Mass Spectrometric Analysis of Aqueous Polysulfide Solutions", *Microchim. Acta*, 2004, 146, 229

参考文献

- 1) Y. Kimura, Y. Mikami, K. Osumi, M. Tsugane, J. Oka, and H. Kimura, "Polysulfides are possible H₂S-derived signaling molecules in rat brain", *FASEB J.*, 2013, 27, 2451.
- 2) S. Koike, Y. Ogasawara, N. Shibuya, H. Kimura, and K. Ishii, "Polysulfide exerts a protective effect against cytotoxicity caused by *t*-buthylhydroperoxide through Nrf2 signaling in neuroblastoma cells", *FEBS Lett.*, 2013, 587, 3548.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

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
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

-SulfoBiotics- Sodium disulfide (Na₂S₂)

同仁品コード：SB02
100 mg × 5 ￥12,000

Sodium disulfide, anhydrous
〔CAS No. 22868-13-9〕

Protocol: 「サルフェン硫黄を系の中に加えたい」

規格 (1) 性状：黄色～黄褐色粉末又は固体 Na₂S₂=110.11
(2) 純度：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光，2. 吸湿注意
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

腐食性



-SulfoBiotics- Sodium trisulfide (Na₂S₃)

同仁品コード：SB03
100 mg × 5 ￥12,000

Sodium trisulfide, anhydrous
〔CAS No. 37488-76-9〕

Protocol: 「サルフェン硫黄を系の中に加えたい」

規格 (1) 性状：黄色～黄褐色粉末又は固体 Na₂S₃=142.16
(2) 純度：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光，2. 吸湿注意
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

腐食性



-SulfoBiotics- Sodium tetrasulfide (Na₂S₄)

同仁品コード：SB04
100 mg × 5 ￥12,000

Sodium tetrasulfide, anhydrous
〔CAS No. 12034-39-8〕

Protocol: 「サルフェン硫黄を系の中に加えたい」

規格 (1) 性状：黄色～黄褐色粉末又は固体 Na₂S₄=174.22
(2) 純度：90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光，2. 吸湿注意
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

腐食性



最新の情報は [web](#) へ 同仁化学 SB02/SB03/SB04 で検索

-SulfoBiotics- GYY4137(4-Methoxyphenyl)morpholinylphosphinodithioic acid, morpholine salt
[CAS No. 106740-09-4]同仁品コード：SB06
10 mg ¥7,000**Protocol**：「硫化水素を系の中に加えたい」**規格**

- (1) 性状：白色～微黄色粉末
- (2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上
- (3) NMR スペクトル：試験適合

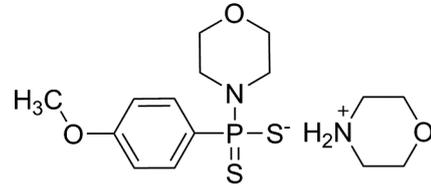
取扱注意

- 1. 安衛法, 特定化学物質, 化審法,
- 2. 保存方法：冷蔵

PRTR 法：第 1 種指定化学物質

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

感嘆符 健康有害性

**構造式**C₁₅H₂₅N₂O₃PS₂=376.47

性質 近年、硫化水素 (H₂S) が、血管拡張や細胞保護、インスリン分泌や神経伝達調節など様々な生理活性を示すことが明らかにされ、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に続く第 3 のガス状シグナル分子として注目されている。硫化水素は、NO や CO と同様にガス状分子として認知されているが、生理条件下では約 80% が硫化水素イオン (HS⁻) の状態で存在する。また、硫化水素イオンは生体内でパースルフィドやポリスルフィド、タンパク質結合硫黄など様々な構造をとるため、その作用機序の詳細は未だ不明な点が多く残されている。

硫化ナトリウムや硫化水素ナトリウムは、最も一般的な硫化水素ドナーとして硫化水素研究に用いられている。しかし、水に溶解すると瞬時にすべて硫化水素 (イオン) に変換されるため、一過性の硫化水素刺激しか与えることができない。GYY4137 は、P. K. Moore らによって開発された徐放型の硫化水素ドナーであり、加水分解によって持続的に硫化水素を放出する試薬である¹⁾。そのため、硫化ナトリウムや硫化水素ナトリウム添加のような一過性の刺激では観察されない血圧降下作用や抗がん作用などの効果を示すことが確認されている²⁻⁵⁾。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

参考文献

- 1) L. Li, M. Whiteman, Y. Y. Guan, K. L. Neo, Y. Cheng, S. W. Lee, Y. Zhao, R. Baskar, C-H. Tan, and P. K. Moore, "Characterization of a Novel, Water-Soluble Hydrogen Sulfide-Releasing Molecule (GYY4137): New Insights Into the Biology of Hydrogen Sulfide", *Circulation*, 2008, 117, 2351.
- 2) M. Whiteman, L. Li, P. Rose, C-H. Tan, D. B. Parkinson, and P. K. Moore, "The Effect of Hydrogen Sulfide Donors of Lipopolysaccharide-Induced Formation of Inflammatory Mediators in Macrophages", *Antioxid. Redox Signal.*, 2013, 19, 1749.
- 3) Z. W. Lee, J. Zhou, C-S. Chen, Y. Zhao, C-H. Tan, L. Li, P. K. Moore, and L-W. Deng, "The Slow-Releasing Hydrogen Sulfide Donor, GYY4137, Exhibits Novel Anti-Cancer Effects *In Vitro* and *In Vivo*", *PLoS One*, 2011, 6, e21077.
- 4) L. Li, B. Fox, J. Keeble, M. Salto-Tellez, P. G. Winyard, M. E. Wood, P. K. Moore, and M. Whiteman, "The complex effects of the slow-releasing hydrogen sulfide donor GYY4137 in a model of acute joint inflammation and in human cartilage cells", *J. Cell. Mol. Med.*, 2013, 17, 365.
- 5) Z. Liu, Y. Han, L. Li, G. Meng, X. Li, M. Shirhan, M. T. Peh, L. Xie, S. Zhou, X. Wang, Q. Chen, W. Dai, C-H. Tan, S. Pan, P. K. Moore and Y. Ji, "The hydrogen sulfide donor, GYY4137, exhibits anti-atherosclerotic activity in high fat fed apolipoprotein E^{-/-} mice", *Br. J. Pharmacology*, 2013, 169, 1795.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色 / 金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

Protocol: 「硫化水素を系の中に加えたい」

性質 H₂S donor 5 a, 8 l, 8 o は、M. Xian らが開発した新規の硫化水素ドナーであり、生体内に存在する還元物質（グルタチオンやシステインなど）に反応して硫化水素を発生する。水溶液中では安定であるが、血液や組織、細胞に

添加するとチオール基を有する還元物質によって分解され、硫化水素を放出する。本試薬類は、硫化水素の機能を解明する上で有用な研究ツールと考えられる。

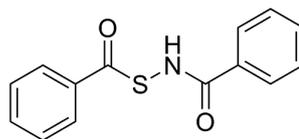
-SulfoBiotics- H₂S donor 5a

同仁品コード：SB07
10 mg ¥15,000

N-(Benzoylthio)benzamide
〔CAS No. 134861-13-5〕

規格 (1) 性状：白色～微黄白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

構造式

C₁₄H₁₁NO₂S=257.31

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

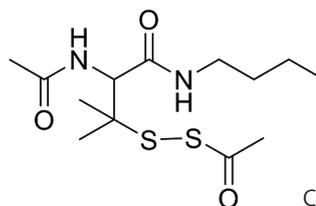
-SulfoBiotics- H₂S donor 8l

同仁品コード：SB08
10 mg ¥18,000

N-Butyl-*N*'-acetyl-*S*-acetylsulfanyl-DL-penicillamine amide
〔CAS No. 1430811-09-8〕

規格 (1) 性状：白色～微黄白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵, 2. 窒素置換

構造式

C₁₃H₂₄N₂O₃S₂=320.47

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

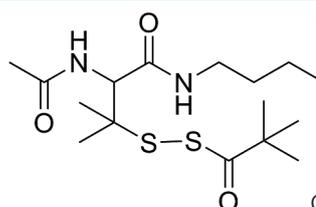
-SulfoBiotics- H₂S donor 8o

同仁品コード：SB09
10 mg ¥18,000

N-Butyl-*N*'-acetyl-*S*-pivaloylsulfanyl-DL-penicillamine amide
〔CAS No. 1430811-12-3〕

規格 (1) 性状：無色～白色固体
(2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上
(3) NMR スペクトル：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵

構造式

C₁₆H₃₀N₂O₃S₂=362.55

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

参考文献

- 1) Y. Zhao, S. Bhushan, C. Yang, H. Otsuka, J. D. Stein, A. Pacheco, B. Peng, N. O. Devarie-Baez, H. C. Aguilar, D. J. Lefer and M. Xian, "Controllable Hydrogen Sulfide Donors and Their Activity against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury", *Chem. Biol.*, 2013, 8, 1283.
- 2) Z. W. Lee, J. Zhou, C-S. Chen, Y. Zhao, C-H. Tan, L. Li, P. K. Moore, and L-W. Deng, "The Slow-Releasing Hydrogen Sulfide Donor, GYY4137, Exhibits Novel Anti-Cancer Effects *In Vitro* and *In Vivo*", *PLoS One*, 2011, 6, e21077.

最新の情報は [web](#) へ 同仁化学 SB07/SB08/SB09 で検索

-SulfoBiotics- Sodium sulfide (Na₂S)Sodium sulfide, anhydrous
[CAS No. 1313-82-2]同仁品コード：SB01
100 mg × 5 ￥9,000**Protocol:** 「硫化水素を系の中に加えたい」

規格 (1) 性状：白色～黄褐色粉末又は結晶性粉末又は固体
(2) 純度（滴定）：97.0% 以上

溶解例 7.8 mg/ml(H₂O): 100 mmol/l Na₂S 水溶液

取扱注意 1. 安衛法，輸出令別表 1 輸出許可品目，
2. 保存方法：冷蔵，3. 吸湿注意

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

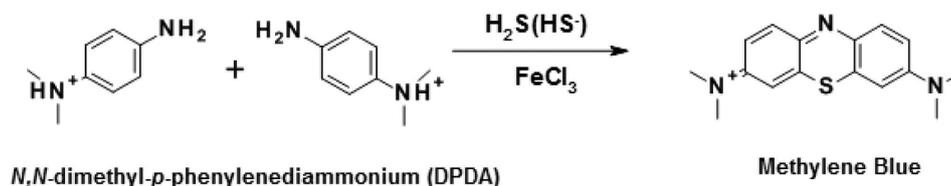
Na₂S=78.04

性質 近年、硫化水素 (H₂S) が、血管拡張や細胞保護、インスリン分泌や神経伝達調節など様々な生理活性を示すことが明らかにされ、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に続く重要なシグナル分子として注目されている。硫化水素は、NO や CO と同様にガス状分子として認知されているが、その pK_a は約 7 であり生理的 pH では約 80% が硫化水素イオン (HS⁻) の状態で存在する。また、硫化水素イオンは、

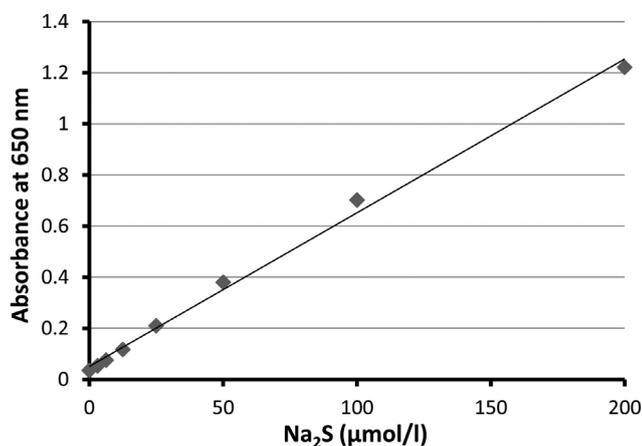
生体内で様々な結合形態や構造をとるため、その作用機序の詳細に関して未だ不明であり、硫化水素を中心とした硫黄の生体内機能の解明が待ち望まれている。硫化ナトリウム (Na₂S) は、最も一般的に使用されている硫化水素ドナーであり、水に溶解すると速やかに分解して硫化水素を放出する。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

メチレンブルー法を用いた硫化水素の検出例



メチレンブルー法を用いた硫化水素（イオン）の検出方法



硫化水素濃度に依存した 650 nm の吸光度の変化

Na₂S 標準液 (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.3, 3.2, 0 μmol/l) 250 μl に、それぞれ 1% 酢酸亜鉛水溶液 300 μl, 20 mmol/l N,N-dimethyl-*p*-phenylenediammonium (7.2 mol/l HCl) 溶液 50 μl, 30 mmol/l FeCl₃ (1.2 mol/l HCl) 溶液 50 μl を添加し、室温で 30 分静置後、マイクロプレートリーダーを用いて測定。

参考文献

- 1) R. Greiner, Z. Palinkas, K. Basell, D. Becher, H. Antelmann, P. Nagy and T. P. Dick, "Polysulfides link H₂S to protein thiol oxidation", *Antioxid. Redox Signal.*, 2013, 19, 1749.
- 2) N. S. Lawrence, J. Davis and R. G. Compton, "Analytical strategies for the detection of sulfide: a review", *Talanta*, 2000, 52, 771.

最新の情報は web へ で検索

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
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

-SulfoBiotics- Stable isotope Na₂S(34) solution同仁品コード：SB05
0.5 ml ¥21,500 (送料込み)

規格 (1) 性状：無色液体
(2) 含量：試験適合

取扱注意 1. 安衛法, 2. 保存方法：冷凍

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

腐食性 健康有害性



性質 近年、硫化水素 (H₂S) が、血管拡張や細胞保護、インスリン分泌や神経伝達調節など様々な生理活性を示すことが明らかにされ、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に続く重要なシグナル分子として注目されている。硫化水素は、NO や CO と同様にガス状分子として認知されているが、その pK_a は約 7 であり生理的 pH では約 80% が硫化水素イオン (HS⁻) の状態で存在する。また、硫化水素イオンは、生体内で様々な結合形態や構造をとるため、その作用機序の詳細に関して未だ不明であり硫化水素を中心とした硫黄の生体内機能の解明が待ち望まれている。

Stable isotope Na₂S(34) solution は安定同位体 (³⁴S) を含む 20 mmol/l 硫化水素ドナー (0.3 mol/l NaOH) 溶液であり、天然に最も多く存在する硫黄 (³²S) とは質量数が [+2]

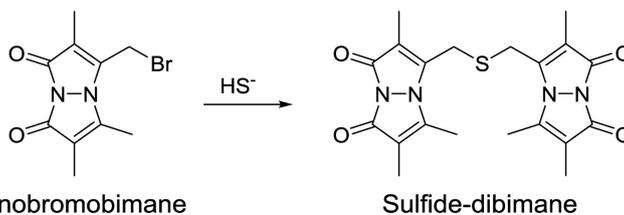
異なるため、硫化水素の生体内動態を MS (マスマスペクトロメトリー) 装置によって解析することができる。本品は硫化水素の機能を解明する上で有用な研究ツールと考えられる。

【使用方法と特別注意事項】

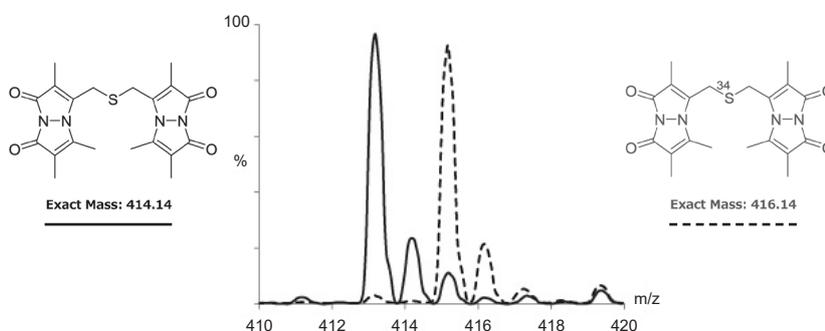
- ・本製品はアルカリ水溶液のため、取扱いに十分注意すること。
- ・バッファー類で希釈し、希釈後は直ちに使用すること。
- ・開封後は必要に応じて少量小分けした後、-20℃以下で保存すること。
- ・凍結・融解の繰り返しは劣化の原因となるため避けること。

(開発元：Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

Monobromobimane を用いた MS 解析



Monobromobimane と硫化水素 (イオン) の反応



Sulfide-dibimane の MS スペクトル

Electrospray ionization (ESI)-Mass (Waters)
Single quadrupole mass detector (Negative mode)

参考文献

- 1) M. Nishida, *et al.*, "Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulphydration", *Nat. Chem. Biol.*, 2012, 8, 714.
- 2) X. Shen, S. Chakraborty, T. R. Dugas, and C. G. Kevil, "Hydrogen sulfide measurement using sulfide dibimane: critical evaluation with electrospray ion trap mass spectrometry", *Nitric Oxide*, 2014, 41, 97.

最新の情報は web へ 同仁化学 SB05 で検索