

10 酸化還元発色試薬

概要

臨床分析における測定法は、複雑な構成物質からなるサンプルに含まれる目的とする成分を正確に測定することが求められている。そのため、使用できる手法は限られており、抗体を使った免疫分析、酵素を使った生化学分析が主流である。免疫分析は、抗原(測定成分)に対する抗体の認識活性に依存する場合が多く、目的成分濃度を分析できるだけの力価を持つことが求められる。また、構造が類似している成分を認識しないことが必須である。

酵素を使った方法は、目的成分が酵素的に反応することにより発生するものを測定する方法である。一般に、オキシダーゼ(酸化酵素)やデヒドロゲナーゼ(還元脱水素酵素)が用いられる。酵素反応は特異性が高く妨害物質の影響を受けにくい。オキシダーゼを用いる場合は、過酸化水素が発生するため、その過酸化水素を測定する方法がとられる。過酸化水素は電子供与体存在下でペルオキシダーゼを水に分解する。電子供与体として適当な酸化発色色素を用いることにより、過酸化水素量を発色量として規定でき、その数値は目的成分(基質)の存在量に比例する。デヒドロゲナーゼを用いる場合は、補酵素を介して電子移動が起こる。発生する電子の量が、デヒドロゲナーゼの基質量に比例するため、基質濃度測定には還元型補酵素から電子を受け取って発色する色素化合物が用いられる。デヒドロゲナーゼの補酵素としては、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)かニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリド(NADP⁺)が一般的である。これらの補酵素は電子伝達物質として酵素反応により二電子還元を受け、それぞれNADH、NADPHとなる。

過酸化水素/ペルオキシダーゼ反応発色試薬

反応時の電子供与体としては、フェノール性化合物やアニリン誘導体などが知られている。4-アミノアンチピリン(4-AA)や3-メチル2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン(MBTH)などのカップリング剤と呼ばれる化合物と一緒に用いられ、Trinderらが開発したことにより、Trinder's reagentと呼ばれている。これらの化合物は安定性や水溶性などの点で問題を抱えており、アニリン誘導体にアルキルスルホン酸を導入した新しい試薬が開発された(New Trinder's reagent)。これらの水溶性アニリン誘導体は、従来のアニリン誘導体に比べ水溶液安定性が高く、一般的に酵素に対する阻害活性も低い。各種水溶性アニリン誘導体があり、酵素の種類に応じて適した化合物を選択することができる。

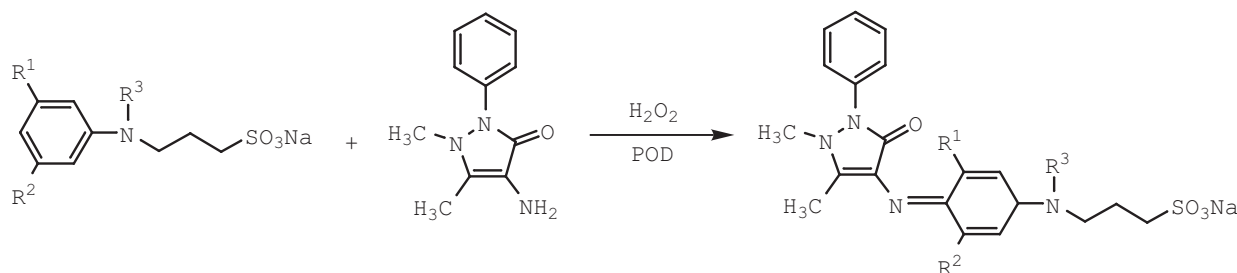


図1 新トリンダー試薬と4-アミノアンチピリンの酸化発色反応

デヒドロゲナーゼ反応発色試薬

生体内では多様なデヒドロゲナーゼが働いているが、それぞれNAD⁺、NADH⁺のいずれかを補酵素とする。普遍的に存在する乳酸脱水素酵素(LDH)はNAD⁺を補酵素とし、乳酸をピルビン酸に還元する。生じたNADHは、電子伝達物質に電子を渡しNADとなり、電子伝達物質は受け取った電子により還元性発色色素を発色させる。従来、Nitro-TBやMTTなどのテトラゾリウム塩が染色用に開発されたため、還元されて生じるホルマザンは水溶性が低い。均一系で分析するためにはテトラゾリウム塩もそのホルマザンも水溶性であることが求められる。これまでスルホン酸基導入による水溶性が検討され、数多くのWST (Water-Soluble Tetrazolium salt)が開発された。これらWSTは臨床目的で使用検討のほかに、細胞増殖アッセイにも利用されている(Cell Counting Kit、Cell Counting Kit-8)。

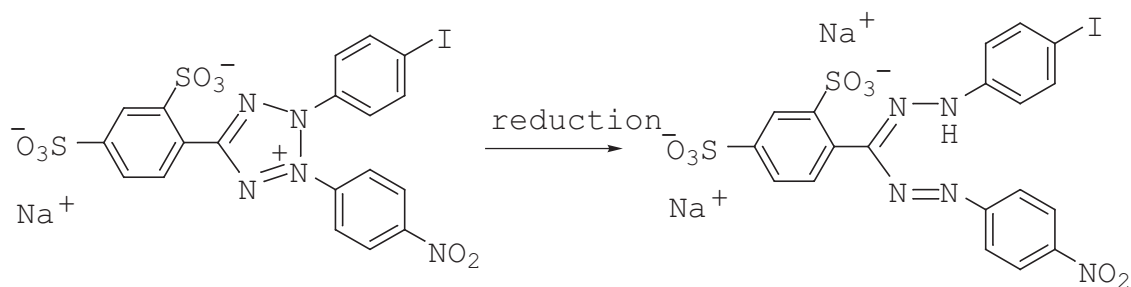


図2 WST-1の還元発色反応

*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

細胞 増殖/毒性	10-1 還元系発色試薬		10-3 酸化系発色試薬	
酸化 ストレス	WST-1	208	DAB	216
分子 生物学	WST-3	209	p-HBC	217
細胞内 蛍光プローブ	CTC	210	SAT-3	217
細胞 染色	INT	211	TMBZ	218
細菌研究用 試薬	MTT	212	TMBZ・HCl	218
膜タン パク質	Nitro-TB	213		
ラベル 化剤	TB	214	10-4 酸化系発色試薬 (新トリンダー試薬)	
二価性 試薬	10-2 電子キャリアー		ADOS	220
酸化 還元	1-Methoxy PMS	215	ADPS	220
イオン 電極			ALPS	221
シンチ レーター			DAOS	221
生化学用 緩衝剤			HDAOS	222
キレート			MAOS	222
比色/金属 試薬			TOOS	223
水質 分析用			TOPS	223
溶媒 抽出			MADB	224
高純度 溶媒			TODB	224
その他				
機能性 有機材料				

10-1 還元系発色試薬

WST-1

2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt
[CAS No. 150849-52-8]

同仁品コード：W201
25 mg ￥10,400 342-06451
100 mg ￥22,400 348-06453
500 mg ￥71,800 346-06454

規格

- (1) 性状：淡黄色～黄褐色粉末
- (2) 水溶状：試験適合
- (3) モル吸光係数：21,600 以上 (244 nm 付近)
- (4) 水分：6.0% 以下
- (5) 鋭敏度：試験適合
- (6) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
- (7) IR スペクトル：試験適合
- (8) NMR スペクトル：試験適合

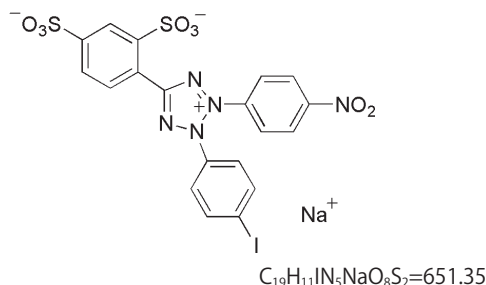
溶解例

10 mg/ml (水)、6.5 mg/10 ml
(50 mmol/l トリス buffer, pH8.0)

取扱注意

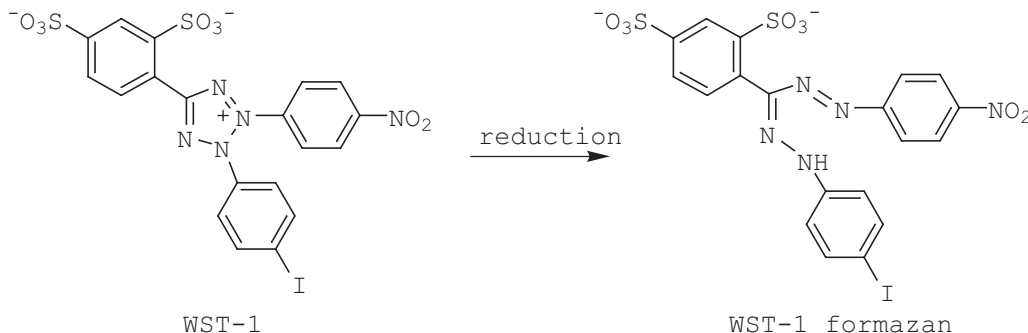
1. 保存方法：冷蔵

構造式



性質 現在、還元型発色試薬の MTT は生化学分野で広く利用されている。しかし、MTT から生じるホルマザンは、水に難溶な結晶として細胞表面に析出するため、吸光度測定時には、それを溶解させ均一溶液にする操作が必要になる。そこで、水溶性ホルマザンを生じるテトラゾリウム塩

WST-1 は 1-Methoxy PMS を電子キャリアーとして用いると、脱水素酵素により還元され黄色ホルマザン ($\lambda_{\max}=438$ nm、 $\epsilon=3.7 \times 10^4$) を生じる。生じたホルマザンは 0.1 mol/l 以上の濃度で水に溶解する。



参考文献

- 1) M. Ishiyama, M. Shiga, K. Sasamoto, M. Mizoguchi and Pin-Gang He, "A New Sulfonated Tetrazolium Salt That produces a Highly Water-soluble Formazan Dye", *Chem. Pharm. Bull.*, 1993, 41, 1118.
- 2) T. Yano, K. Teruya, S. Shirahata, J. Watanabe, K. Osada, H. Tachibana, H. Ohashi, Eun-Ho Kim and H. Murakami, "Ras Oncogene Enhances the Production of a Recombinant Protein Regulated by the Cytomegalovirus Promoter in BHK-21 Cells", *Cytotechnology*, 1994, 16, 167.
- 3) K. Teruya, T. Yano, S. Shirahata, J. Watanabe, K. Osada, H. Ohashi, H. Tachibana, Eun-Ho Kim and H. Murakami, "Ras Amplification in BHK-21 Cells Produces a Host Cell Line for Further Rapid Establishment of Recombinant Protein Hyper-producing Cell Lines", *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995, 59, 341.
- 4) M. Ishiyama, K. Sasamoto, M. Shiga, Y. Ohkura and K. Ueno, "Novel Disulfonated Tetrazolium Salt That can be Reduced to a Water-soluble Formazan and Its Application to the Assay of Lactate Dehydrogenase", *Analyst*, 1995, 120, 113.
- 5) M. Ishiyama, H. Tominaga, M. Shiga, K. Sasamoto, Y. Ohkura, K. Ueno and M. Watanabe, "Novel Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays Using a Tetrazolium Salt That Produces a Water-soluble Formazan Dye", *In Vitro Toxicology*, 1995, 8, 187.
- 6) S. Q. Liu, K. Saijo, T. Todoroki and T. Ohno, "Induction of Human Autologous Cytotoxic T Lymphocytes on Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Tumour Sections", *Nature Med.*, 1995, 1(3), 267.
- 7) T. Takenouchi and E. Munekata, "Trophic Effects of Substance P and β -Amyloid Peptide on Dibutyryl Cyclic AMP-Differentiated Human Leukemic (HL-60) Cells", *Life Sci.*, 1995, 56, 479.
- 8) T. Iwaki, A. Iwaki, Y. Fukumaki and J. Tateishi, " β -Crystallin in C6 Glioma Cells Supports their Survival in Elevated Extracellular K⁺: the Implication of a Protective Role of β -Crystallin Accumulation in Reactive Glia", *Brain Res.*, 1995, 673, 47.
- 9) 渡邊正己, "細胞増殖測定法", 組織培養, 1995, 27(12), 435.
- 10) M. Ishiyama, H. Tominaga, M. Shiga, K. Sasamoto, Y. Ohkura and K. Ueno, "A Combined Assay of Cell Viability and vitro Cytotoxicity with a Highly Water-soluble Tetrazolium Salt, Neutral Red and Crystal Violet", *Biol. Pharm. Bul.*, 1996, 19, 1518.
- 11) 溝口誠, 石山宗孝, 志賀匡宣, 佐々本一美, 臨床化学分析における新規な酸化及び還元発色試薬の開発, 分析化学, 1996, 45, 111.
- 12) T. Mosmann, "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays", *J. Immunol. Methods*, 1983, 65, 55.
- 13) A. H. Cory, T. C. Owen, J. A. Barltrop and J. G. Cory, "Use of an Aqueous Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth Assays in Culture", *Cancer Commun.*, 1991, 3, 207.
- 14) N. W. Roehm, G. H. Rodgers, S. M. Hatfield and A. L. Glasebrook, "An Improved Colorimetric Assay for Cell Proliferation and Viability Utilizing the Tetrazolium Salt XTT", *J. Immunol. Methods*, 1991, 142, 257.
- 15) 本多宏明, 小澤善徳, 森川秀行, 水村津与志, 長田嘉穂, 鈴木昌治, "マイクロプレートリーダーを用いるしょうゆ中 L-グルタミン酸, グルコースおよびアミノ基の定量", 醤油の研究と技術, 2005, 37(2), 63.

最新の情報は web で検索

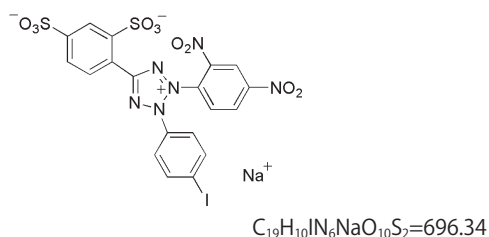
細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル
化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

WST-3

2-(4-Iodophenyl)-3-(2,4-dinitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt
〔CAS No. 515111-36-1〕同仁品コード：W202
100 mg ￥24,600

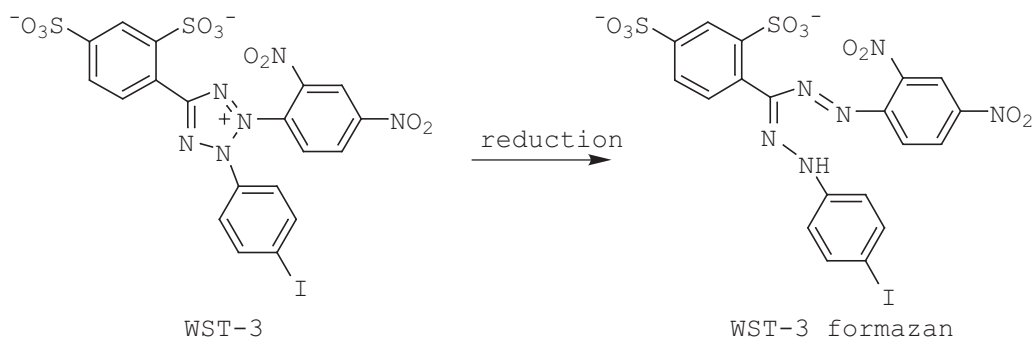
- 規格**
- (1) 性状：淡黄色～淡褐色粉末
 - (2) 水溶状：試験適合
 - (3) モル吸光係数：36,000 以上 (235 nm 付近)
 - (4) 鋭敏度：試験適合
 - (5) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
 - (6) IR スペクトル：試験適合
 - (7) NMR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 10 mg/ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

構造式



性質 水溶性のホルマザンを生成するテトラゾリウム塩である WST-3 は、1-Methoxy PMS を電子キャリアーとして用いると NADH により還元されて黄色のホルマザン ($\lambda_{\max}=433$ nm) を生じる。ホルマザンの吸光度は NADH

の濃度に比例し、原点を通る良好な直線性の検量線を与える。還元反応は pH、界面活性剤およびタンパクなどの影響を受け難く再現性のよい測定値が得られる。NAD(P)H 検出用高感度試薬として利用できる。



参考文献

- 1) M. Ishiyama, K. Sasamoto, M. Shiga, Y. Ohkura, K. Ueno, K. Nishiyama and I. Taniguchi, "Novel Disulfonated Tetrazolium Salt That Can Be Reduced to a Water-soluble Formazan and Its Application to the Assay of Lactate Dehydrogenase", *Analyst*, 1995, 120, 113.
- 2) I. Sakurabayashi, T. Watano, S. Yonehara, K. Ishimaru, K. Hirai, T. Komori and M. Yagi, "New Enzymatic Assay for Glycohemoglobin", *Clin. Chem.*, 2003, 49, 269.

最新の情報は web へ [同仁化学 W202](#) で検索

CTC

5-Cyano-2,3-ditolyl-2H-tetrazolium chloride
〔CAS No. 90217-02-0〕同仁品コード：C440
100 mg ¥16,900

規格

- (1) 性状：白色～微橙色粉末又は結晶性粉末
- (2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上
- (3) 水溶状：試験適合
- (4) モル吸光係数：7,500 以上 (300 nm 付近)
- (5) 鋭敏度：試験適合
- (6) IR スペクトル：試験適合

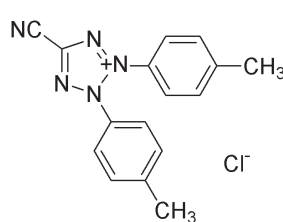
溶解例

3 mg/10 ml (水)

取扱注意

1. 医薬用外劇物
2. 保存方法：冷蔵、遮光

構造式

C₁₆H₁₄ClN₅=311.77

性質 細菌の検出方法としては、細菌を培養し生じたコロニーを計数する寒天平板培地法、蛍光色素で細菌を染色する蛍光染色法、増殖能を持つ細菌を検出する DVC 法、特定の細菌を検出する FISH 法・遺伝子増幅法などがあり、目的に応じて使い分けられている。蛍光染色法の中で、呼吸活性を持つ細菌を計数する方法としては、CTC が一般的に用いられている。

CTC は、呼吸活性に伴う電子伝達系の作用で CTC formazan (CTF) に還元され、水に不溶性となり細胞中に蛍光性沈澱として蓄積する。CTC 自体は水溶性で、水溶液中で無蛍光である。一方、CTF は粘性の低い溶液中では蛍光を持たないが、粘性の高い溶液中や固体状態では赤色蛍光を発する。CTC を試料とインキュベートした後、蛍光顕微鏡下に計数するか、フローサイトメトリーで分析することにより、呼吸活性を有する細菌数を求めることができる。核酸染色試薬と併用して全菌数と生菌数を計数したり、FISH 法

と併用して特定種の生菌数を選択的に計数するなどして、より高度な情報を得ることも可能である。生きているが培養困難な状態 (VNC 状態：viable but non-culturable) にある細菌の存在が明らかとなり、迅速な微生物検査法への要求も高まっていることから、衛生検査の手法として期待される。

特徴

- 1) 呼吸活性を有する細菌を選択的に染色できる。
- 2) 寒天平板培地法に比べ短時間で結果が得られる。
- 3) 蛍光顕微鏡・フローサイトメトリーで検出できる。

注意点

CTC を溶液状態で保存しておくとき徐々に加水分解し、染色能が低下するので用時調製していただきたい。特にアルカリ性の溶液中では不安定である。

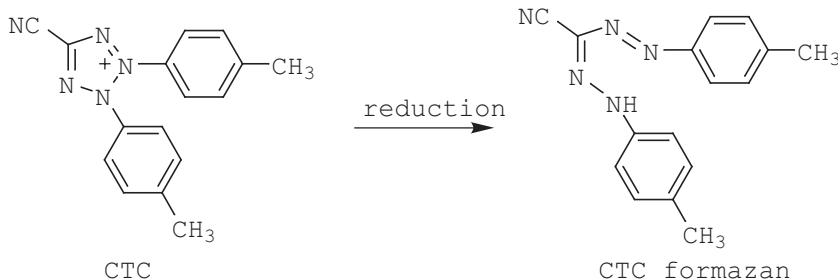


表. CTC による細菌の染色例

グラム陽性菌	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
グラム陰性菌	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Vibrio cholerae</i>

参考文献

- 1) A. W. Coleman, "Enhanced Detection of Bacteria in Natural Environments by Fluorochrome Staining of DNA", *Limnol. Oceanogr.*, 1980, 25, 948.
- 2) E. Severin, J. Stellmach and H.M. Nachtigal, "Fluorimetric Assay of Redox Activity in Cells", *Anal. Chim. Acta*, 1985, 170, 341.
- 3) G. G. Rodriguez, D. Phipps, K. Ishiguro and H. F. Ridgway, "Use of a Fluorescent Redox Probe for Direct Visualization of Actively Respiring Bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, 58 (6), 1801.
- 4) G. Schaulle, H. C. Flemming and H. F. Ridgway, "Use of 5-Cyano-2,3-ditolyl Tetrazolium Chloride for Quantifying Planktonic and Sessile Respiring Bacteria in Drinking Water", *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, 59 (11), 3850.
- 5) R. A. Bovill, J. A. Shalloross and B. M. Markey, "Comparison of the Fluorescent Redox Dye 5-Cyano-2,3-ditolyltetrazolium Chloride with *p*-Iodonitrotetrazolium Violet to Detect Metabolic Activity in Heat-stressed *Listeria monocytogenes* Cells", *J. Appl. Bacteriol.*, 1994, 77 (4), 353.
- 6) M. T. E. Suller and D. Lloyd, "Flow Cytometric Assessment of the Postantibiotic Effect of Methicillin on *Staphylococcus aureus*", *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, 42 (5), 1195.
- 7) M. Kawai, N. Yamaguchi and M. Nasu "Rapid Enumeration of Physiologically Active Bacteria in Purified Water Used in the Pharmaceutical Manufacturing Process", *J. Appl. Microbiol.*, 1999, 86, 496.
- 8) N. Yamaguchi, M. Sasada, M. Yamanaka and M. Nasu, "Rapid Detection of Respiring *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice, Milk, and Ground Beef by Flow Cytometry", *Cytometry*, 2003, 54A, 27.
- 9) A. Kitaguchi, N. Yamaguchi and M. Nasu, "Enumeration of Respiring *Pseudomonas* spp. in Milk within 6 Hours by Fluorescence In Situ Hybridization Following Formazan Reduction", *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71(5), 2748.

最新の情報は web へ 同仁化学 C440 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

MTT

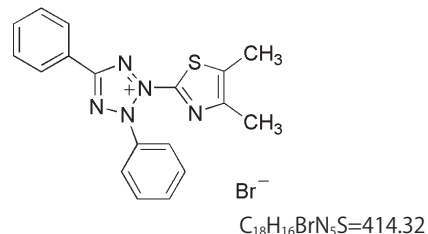
3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide
〔CAS No. 298-93-1〕

Protocol: 「生細胞数を測りたい (吸光測定)」

	同仁品コード: M009
100 mg	¥3,200 345-01821
1 g	¥15,600 341-01823
5 g	¥55,600 349-01824

規格	(1) 性状: 黄色~黄橙色粉末
	(2) 純度 (吸光度): 97.0% 以上
	(3) モル吸光係数: 8,250 以上 (375 nm 付近)
	(4) メチルアルコール溶状: 試験適合
	(5) 融点: 190 ~ 205°C (分解)
	(6) 強熱残分 (硫酸塩): 0.10% 以下
	(7) 鋭敏度: 試験適合
	(8) IR スペクトル: 試験適合
溶解例	100 mg/10 ml (熱メチルアルコール)

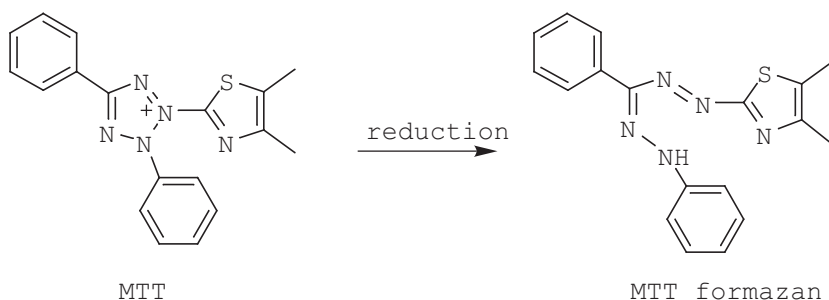
構造式



性質 メチルアルコールにはやや溶けるが、水、エチルアルコールにはわずしか溶けない。エーテル、アセトン、酢酸エチルには全く溶けない。モノテトラゾリウムではあるがその性質が優れているため、TB、Nitro-TBなどが開発された後でもまだ広く利用されている。脱水素酵素によって

赤紫色のホルマザン ($\lambda_{\max}=565 \text{ nm}$, $\epsilon=2 \times 10^4$) を生ずる。コバルトキレートは $\lambda_{\max}=660 \text{ nm}$ ($\epsilon=2 \times 10^4$) となる。

* 使用方法はプロトコルをご覧ください。



参考文献

- 1) T. F. Slater, B. Sawyer and U. Strauli, "Studies on Succinate-tetrazolium Reductase Systems III. Points of Coupling of Four Different Tetrazolium Salts", *Biochim. Biophys. Acta.*, 1963, 77, 383.
- 2) T. Mosmann, "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays", *J. Immunol. Methods*, 1983, 65, 55.
- 3) H. Tada, O. Shiho, K. Kuroshima, M. Koyama and K. Tsukamoto, "An Improved Colorimetric Assay for Interleukin 2", *J. Immunol. Methods*, 1986, 93, 157.
- 4) M. C. Alley, D. A. Scudiero, A. Monks, M. L. Hursey, M. J. Czerwinski, D. L. Fine, B. J. Abbott, J. G. Mayo, R. H. Shoemaker and M. R. Boyd, "Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay", *Cancer Res.*, 1988, 48, 589.
- 5) E. Aoyama, N. Kobayashi, M. Shibata, T. Nakagawa and H. Tanaka, "Determination of Selenium by Flow Injection Analysis Based on the Selenium(III)-Catalyzed Reduction of 3-(4,5-Dimethyl-2-Thiazolyl)-2,5-Diphenyl-2H Tetrazolium Bromide", *Anal. Sci.*, 1991, 7, 103.
- 6) H. Yamaue, H. Tanimura, T. Tsunoda, M. Tani, M. Iwahashi, K. Noguchi, M. Tamai, T. Hotta and K. Arii, "Chemoresensitivity Testing with Highly Purified Fresh Human Tumor Cells with the MTT Colorimetric Assay", *Eur. J. Cancer*, 1991, 27, 1258.
- 7) M. Kodama, T. Yoshida, H. Otani, K. Kohmoto and S. Nishimura, "Effect of AL-toxin Produced by *Alternaria alternata* Tomato Pathotype on Viability of Cultured Tomato Cells Determined by MTT-colorimetric Assay", *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 1991, 57, 663.
- 8) H. Yamaue, H. Tanimura, K. Noguchi, T. Hotta, M. Tani, T. Tsunoda, M. Iwahashi, M. Tamai and S. Iwakura, "Chemoresensitivity Testing of Fresh Human Gastric Cancer with Highly Purified Tumour Cells Using the MTT Assay", *Br. J. Cancer*, 1992, 66, 794.
- 9) M. G. Stevens and S. C. Olsen, "Comparative Analysis of Using MTT and XTT in Colorimetric Assays for Quantitating Bovine Neutrophil Bactericidal Activity", *J. Immunol. Methods*, 1993, 157, 225.
- 10) M. Kodama, K. Inoue, H. Otani and K. Kohmoto, "Cultivar-specific and Non-specific Responses in Tomato Cell Cultures to AL-toxin from *Alternaria alternata* Tomato Pathotype", *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 1995, 61, 582.
- 11) 渡邊正己, "細胞増殖測定法", 組織培養, 1995, 27(12), 435.
- 12) H. Yamaue, H. Tanimura, M. Nakamori, K. Noguchi, M. Iwahashi, M. Tani, T. Hotta, K. Murakami and K. Ishimoto, "Clinical Evaluation of Chemoresensitivity Testing for Patients with Colorectal Cancer Using MTT Assay", *Dis. Colon Rectum*, 1996, 39, 416.
- 13) T. Hotta, H. Tanimura, H. Yamaue, M. Iwahashi, M. Tani, T. Tsunoda, M. Tamai, K. Noguchi, S. Mizobata, K. Arii and H. Terasawa, "Tamoxifen Circumvents the Multidrug Resistance in Fresh Human Gastrointestinal Cancer Cells", *J. Surg. Res.*, 1996, 66, 31.

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

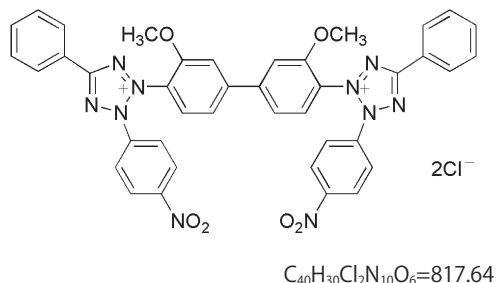
Nitro-TB

3,3'-[3,3'-Dimethoxy-(1,1'-biphenyl)-4,4'-diyl]-bis[2-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride]
〔CAS No. 298-83-9〕

同仁品コード：N011
100 mg ¥3,600 348-02031
1 g ¥20,600 344-02033

- 規格**
- (1) 性状：黄色結晶性粉末
 - (2) 純度(吸光度)：98.0%以上
 - (3) 水溶状：試験適合
 - (4) メチルアルコール溶状：試験適合
 - (5) トリス緩衝液溶状：試験適合
 - (6) モル吸光係数：63,000以上(257 nm付近)
 - (7) 水分：5.0%以下
 - (8) 鋭敏度：試験適合
 - (9) 乾燥減量：9.5%以下
 - (10) 強熱残分(硫酸塩)：0.20%以下
 - (11) IRスペクトル：試験適合
- 溶解例**
- 50 mg/10 ml (熱水)、100 mg/10 ml (熱メチルアルコール)、50 mg/50 ml (トリス緩衝液, pH7.4)

構造式

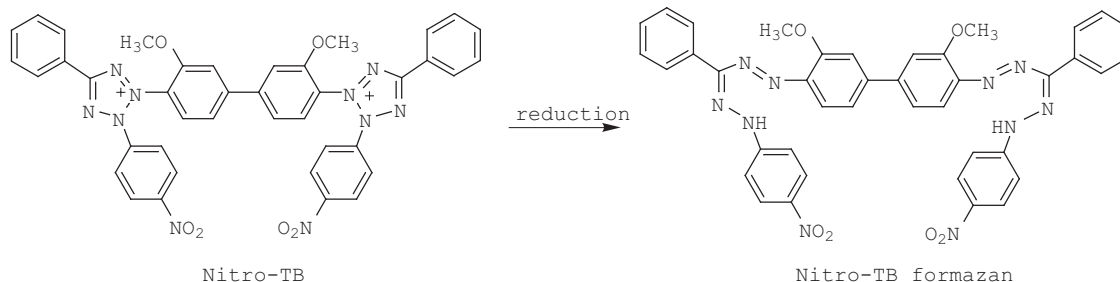


性質 Nitrotetrazolium Blue。融点 184 ~ 210°C。冷水、冷メチルアルコールにはほとんど溶けないが、熱水、熱メチルアルコールにはかなり溶ける。エチルアルコールにはメチルアルコールほど溶けない。アセトン、エーテルなど有機溶媒には全く溶けない。TB より更に還元電位 (-0.05V) が低く、脱水素酵素などがあると容易に還元され青紫色ジホルマザン ($\lambda_{\max}=530 \text{ nm}$, $\epsilon=3.6 \times 10^4$) となって沈着し、脱水素酵素の検出並びに定量ができる。更に、アガロース電気泳動法と組み合わせた LDH 分画法や、ザイモグラフィ

における染色剤としてすぐれ、テトラゾリウム塩の代表的存在となった。

応用可能な物質

検出、定量試薬として：LDH, SDH, TPN, DPN, グルタミンナーゼ
電気泳動法染色試薬として：LDH など
電子顕微鏡による検出試薬として：LDH など



参考文献

- 1) K-C. Tsou, C-S. Cheng, M. M. Nachlas and A. M. Seligman, "Synthesis of Some *p*-Nitrophenyl Substituted Tetrazolium Salts Electron Acceptors for the Demonstration of Dehydrogenases", *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, *78*, 6139.
- 2) J. R. Baker, D. V. Zyzak, S. R. Thorpe and J. W. Baynes, "Mechanism of Fructosamine Assay: Evidence against Role of Superoxide as Intermediate in Nitroblue Tetrazolium Reduction", *Clin. Chem.*, 1993, *39*, 2460.

最新の情報は webへ [同仁化学 N011](#) で検索

TB

3,3'-[3,3'-Dimethoxy-(1,1'-biphenyl)-4,4'-diyl]bis(2,5-diphenyl-2H-tetrazolium chloride)
〔CAS No. 1871-22-3〕

同仁品コード：T012
1 g ¥5,800 345-02683

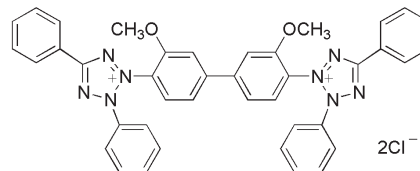
規格

- (1) 性状：淡黄色～淡橙黄色粉末
- (2) 水溶状：試験適合
- (3) メチルアルコール溶状：試験適合
- (4) 融点：248°C 以上（分解）
- (5) モル吸光係数：52,500 以上（254 nm 付近）
- (6) 強熱残分（硫酸塩）：0.20% 以下
- (7) 鋭敏度：試験適合
- (8) IR スペクトル：試験適合

溶解例

50 mg/10 ml（熱水）、
100 mg/10 ml（熱メチルアルコール）

構造式



$C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2=727.64$

性質 Tetrazolium Blue。水にはわずかに溶けるが、アセトン、酢酸エチル、エーテルには溶けず、低級アルコール、四塩化炭素にはかなりよく溶ける。ただ、純度が高くなる程溶けにくくなり、特にエチルアルコール溶解性は急激に減少する。

還元電位は -0.08V、脱水素酵素などがあると容易に還元されて水に不溶性の赤紫色ジホルマザン（ $\lambda_{max}=525\text{ nm}$ ）となり、酵素の存在を示す。従って、組織細胞化学において重要な試薬であり、この種の試薬の中では最も安価である。

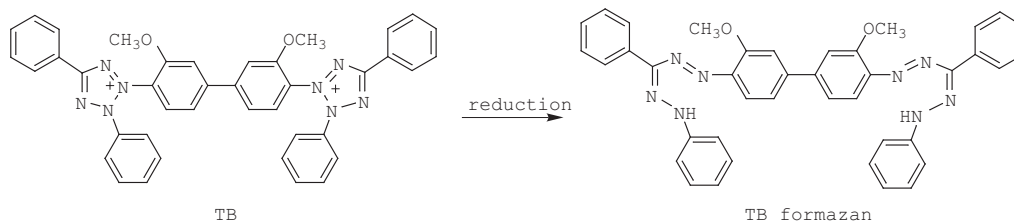
応用可能な物質

酵素の発色試薬として
比色試薬として

乳酸脱水素酵素（LDH）
Co、ステロイド、ケトオール、
チオール、キノンなど

比色波長および定量範囲

17-ヒドロキシコルチコステロイド（ $\lambda_{max}=525\text{ nm}$ ）、
SH（ $\lambda_{max}=530\text{ nm}$ ）、（1～40 ppm）、 $\epsilon=3.5 \times 10^4$ （600 nm）



参考文献

- 1) K-C. Tsou, C-S. Cheng, M. M. Nachlas and A. M. Seligman, "Syntheses of Some *p*-Nitrophenyl Substituted Tetrazolium salts as Electron Acceptors for the Demonstration of Dehydrogenases", *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, 78, 6139.
- 2) S. S. Karmarkar, A. G. E. Pearse and A. M. Seligman, "Preparation of Nitrotetrazolium Salts Containing Benzothiazole", *J. Org. Chem.*, 1960, 25, 575.
- 3) J. E. Sinsheimer and E. F. Salim, "Reactivity of Blue Tetrazolium with Nonketol Compounds", *Anal. Chem.*, 1965, 37, 566.
- 4) 永井諄爾, "テトラゾリウム塩の生化学的応用", *ドータイトニュースレター*, 1965, 13, 2.
- 5) E. P. Altmann, "組織切片からニトロ・ブルーホルマザンの定量的溶離", *Histochemie*, 1969, 17, 319.
- 6) 今村寿明, "自然環境における重金属の有害度の順位", *ドータイト生化学ニュース*, 1973, 12, 6.

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

10-2 電子キャリアー

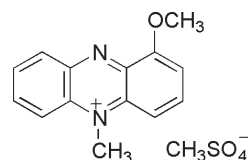
1-Methoxy PMS

1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate
〔CAS No. 65162-13-2〕

	同仁品コード：M003
100 mg	¥7,500 345-04001
1 g	¥46,800 341-04003

規格	(1) 性状：暗赤色～赤紫色粉末
	(2) 純度（吸光度）：95.0% 以上
	(3) 水溶状：試験適合
	(4) モル吸光係数：2,700 以上（505 nm 付近）
	(5) 融点：170℃ 以上（分解）
	(6) IR スペクトル：試験適合
溶解例	34 mg/100 ml（水）

構造式

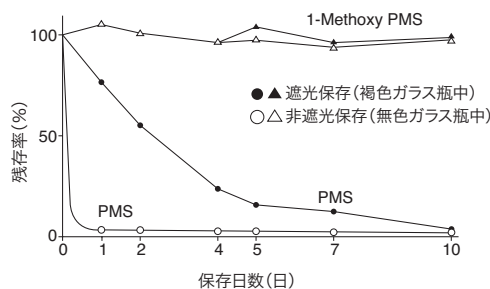
C₁₅H₁₆N₂O₅S=336.36

性質 水には容易に溶けて赤色（ λ_{\max} =505 nm、 ϵ = 2.84×10^3 ）となり、アルコールにもよく溶ける。標準酸化還元電位+0.063V。NADH-テトラゾリウム系の電子キャリアーとしては、PMS（フェナジンメトサルフェート、+0.08 V）やメルドラブルーが利用されているが、PMSの欠点は、光に対して非常に不安定で試薬溶液の保存が困難なことである。これに対し、1-Methoxy-PMSの水溶液は、

透明なガラス容器に保存しても100日間も変化せず、ルーチンワークには極めてすぐれている。

試薬溶液調製法

25 μ mol/l 程度となるように本品を秤量し、一定量の水に溶解する。

PMS類の25 μ mol/l水溶液の安定性

参考文献

- 1) R. Hisada and T. Yagi, "1-methoxy-5-methylphenazinium Methyl Sulfate", *J. Biochem.*, 1977, 82, 1469.
- 2) 八木達彦, "1-メトキシPMS", *Dojin News*, 1979, 14, 1.
- 3) S. Nakamura, K. Arimura, K. Ogawa and T. Yagi, "Use of 1-methoxy-5-methylphenazinium Methyl Sulfate (1-methoxy pms) in the Assay of Some Enzymes of Diagnostic importance", *Clin. Chim. Acta.*, 1980, 101, 321.
- 4) R. Hisada, W. Shinkai and T. Yagi, "Photochemical Stabilities and Biochemical Reactivities of Some Derivatives of 5-methylphenazinium methyl Sulfate (Phenazine Methosulfate)", *J. Appl. Biochem.*, 1981, 3, 535.
- 5) C. J. von Noorden and J. Tas, "The Role of Exogenous Electron Carriers in NAD(P)-dependent Dehydrogenase Cytochemistry Studied *in vitro* and with a Model System of Polyacrylamide Films", *J. Histochem. Cytochem.*, 1982, 30, 12.
- 6) H. Tsuge, Y. Kuroda, A. Iwamoto and K. Ohashi, "Partial Purification and Property of Pyridoxine (Pyridoxamine)-5'-phosphate Oxidase Isozymes from Wheat Seedlings", *Arch. Biochem. Biophys.*, 1982, 217, 479.
- 7) M. Rabinovitch, J. P. Dedet, A. Ryter, R. Robineaux, G. Topper and E. Brunet, "Destruction of *Leishmania Mexicana Amazonensis* Amastigotes within Macrophages in Culture by Phenazine Methosulfate and Other Electron Carriers", *J. Exp. Med.*, 1982, 155, 415.
- 8) 田部一弘, 河崎孝男, 前田昌子, 辻章夫, 藪内正彦, "1-メトキシフェナジンメトサルフェート及びイソルミノールを用いる還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチドの化学発光分析法と生体成分の分析への応用", *分析化学*, 1987, 36, 82.
- 9) 須藤幸夫, 石澤春生, 前田昌子, 辻章夫, "1-メトキシフェナジンメトサルフェート及びイソルミノールによる還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチドの化学発光を用いる 17 α -ヒドロキシプロゲステロンの化学発光酵素", *分析化学*, 1988, 37, 185.

最新の情報は web へ [同仁化学 M003](#) で検索

10-3 酸化系発色試薬

DAB

3,3'-Diaminobenzidine, tetrahydrochloride
〔CAS No. 7411-49-6〕

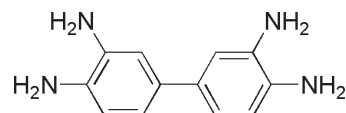
同仁品コード：D006
100 mg ￥6,000 343-00901
1 g ￥18,400 349-00903
5 g ￥68,000 347-00904

- 規格**
- (1) 性状：白色～桃灰色粉末
 - (2) 純度（滴定，乾燥物換算）：97.0% 以上
 - (3) 水溶状：試験適合
 - (4) トリス緩衝液溶状：試験適合 0.040 以下
(500 nm) 0.080 以下 (400 nm)
 - (5) 吸光度（セレン錯体）：0.500 以上
(420 nm 付近)
 - (6) 乾燥減量：5.0% 以下
 - (7) 強熱残分（硫酸塩）：0.05% 以下
 - (8) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例**
- 1 g/50 ml (水)、150 mg/5 ml
(50 mmol/l トリス緩衝液、pH7.6)

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



構造式



4HCl

$C_{12}H_{18}Cl_4N_4=360.11$

性質 光に鋭敏で、直接日光にさらせば灰色を経て茶褐～黒褐色になり、着色したものは精製できない。従って、遮光密栓の上、乾燥した冷暗所に保存する。着色した工業品が試薬として安価に市販されていることもあるが、Seの定量には利用できない。水にはよく溶けるが、有機溶媒には溶けない。Seと特異的に反応して濃黄のピアセレンオールを生成し、トルエンなどの有機溶媒に抽出できるので、Seのすぐれた吸光度定量試薬となり、精製硫酸 (JIS K 1306)、工場排水 (JIS K 0102) などに広く利用される。また、 H_2O_2 、ペルオキシダーゼの存在で鋭敏に反応するので、酸化酵素系の検出試薬としても応用されている。

応用可能な物質

検出試薬として：ペルオキシダーゼ
比色試薬として：Se, V, ジアセチル
蛍光比色試薬として：Se

比色条件 Se比色 (pH6～7、トルエン中 420 nm、 $\epsilon=2.0 \times 10^4$ 、0～50 μ g)、Se蛍光比色 (シクロヘキサン中、520 nm、0.001～0.1 ppm)。多くの金属の妨害はEDTAでマスキングできる。 SO_4^{2-} の存在はDABと不溶性の硫酸塩を生じて妨害する。多量の塩化アンモニウムの添加でその妨害を抑えることができる。

応用例

(1) Seの比色定量：50 μ g以下のSeを含む試料に2.5

mol/l ギ酸 2 ml を加えて、水で 50 ml に希釈し、pH2～3 とする (1～2 mol/l 酸性液中でも使用可能)。この溶液に 0.5% DAB 水溶液 2 ml を加え 30～50 分放置する。次にアンモニア水で pH を 6～7 に調整して分液ロートに移し、トルエンを正確に 10 ml 加え、30 秒間激しく振とうする。数分間静置し上層の透明なトルエン層をとり、420 nm における吸光度を測定する。対照液としては試料の代わりに蒸留水を用いて同様の操作を行ったものを用いる。

(2) ジアセチルの比色定量：DAB は Se の比色試薬として用いられる以前からジアセチルの比色試薬として利用されていたが、チーズ中のジアセチルの定量試薬として優れている。試料は特殊な蒸留装置を用いて蒸留後、DAB を加え発色させ 366 nm で比色する。pH6.7 で蒸留すれば 100% 抽出される。25 g のバター中に 1.9 μ g、国産チーズ中 4.2 ppm 程度存在する。

(3) 生化学的応用：DAB はペルオキシダーゼの細胞組織染色で褐色の色素を生成し、 OsO_4 による固定も極めて容易に行われる。試料を 2～3 mm の厚さに切り出し、ホルマリン処理後、DAB-Tris 染色液 (DAB 30 g、シヨ糖 4.3 g を pH8.4 Tris-HCl 緩衝液 50 ml にとかし、1 mol/l-HCl 約 1 ml を加えて pH7.2 に調整したものを空气中に放置後ろ過し、その 9 ml を pH7.2 Tris-HCl 緩衝液 1 ml と混合する) で染色し、所定の固定処理後、電顕観測する。また、DAB 酸化物はゼラチンがあると沈着が妨害されるので、この方法でペルオキシターゼを比色 (465 nm) することもできる。

参考文献

- 1) A. B. Novikoff, P. M. Novikoff, C. Davis and N. Quintana, "Studies on Microperoxisomes V. Are Microperoxisomes Ubiquitous in Mammalian Cells", *J. Histochem. Cytochem.*, 1973, 21, 737.
- 2) V. Herzog and H. D. Fahimi, "A New Sensitive Colorimetric Assay for Peroxidaase Using 3, 3'-Diaminobenzidine as Hydrogen Donor", *Anal. Biochem.*, 1973, 55, 554.
- 3) H. Yamada, S. Mori, S. Ueda, M. Kawata and Y. Sano, "Improvement of Technique of Immunohistochemical Demonstration of Bioactive Substances in the Central Nervous System", *Acta Histochem. Cytochem.*, 1987, 20, 629.
- 4) K. L. Cheng, "Determination of Traces of Selenium 3,3'-Diaminobenzidine as Selenium(IV) Organic Reagent", *Anal. Chem.*, 1956, 28, 1738.

最新の情報は webへ 同仁化学 D006 で検索

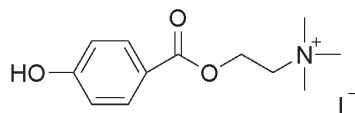
細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル
化剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

p-HBC

p-Hydroxybenzoylcholine iodide
〔CAS No. 81947-42-4〕同仁品コード：H324
1 g ¥6,600

- 規格** (1) 性状：白色結晶性粉末
(2) 純度 (HPLC)：97.0% 以上
(3) 水溶状：試験適合
(4) モル吸光係数：15,700 以上 (258 nm 付近)
(5) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 50 mg/100 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵

構造式

C₁₂H₁₈INO₃=351.18

性質 p-HBC はコリンエステラーゼ活性を測定するための基質である。p-HBC はコリンエステラーゼにより加水分解され、コリンと p-ヒドロキシ安息香酸を生成する (第一反応)。次いで p-ヒドロキシ安息香酸は NADPH の存在下、4-ヒドロキシ安息香酸酸化酵素によりプロトカテキユ酸に変換される (第二反応)。このとき酸化される NADPH の 340 nm における吸光度の減少よりコリンエステラーゼ活性を測定する。第二反応の進行に伴って生ずるプロトカテキユ酸の蓄積は主反応の吸光度測定に正誤差を与えるので、プロ

トカテキユ酸酸素添加酵素を反応液に共存させて測定系から除去する。

p-HBC は、水に対する溶解性が良好な上、コリンエステラーゼの至適 pH においても基質安定性がよいため、再現性よく測定できる。また、p-HBC を基質として使用したコリンエステラーゼ活性測定法は反応機序が明確で、検出系に NADPH を用いた UV 法であるためモル吸光係数による計測が可能であり、ビリルビン、アスコルビン酸およびグルタチオンなどの還元物質の影響を受けない。

参考文献

- 1) 内藤正宏, 本永秀夫, 山崎喜三郎, 齊藤嘉禎, 杉山正巳, 芦原義弘, 笠原靖, "新合成基質 p-ヒドロキシベンゾイルコリンを使用した血清 pseudo-cholinesterase の測定法", 第二回臨床化学夏期セミナープログラム集, 1982, 79.
- 2) 日本臨床化学会, 甲信越, 中国支部酵素委員会, "酵素活性測定に関する日本臨床化学会報告法 ヒト血清コリンエステラーゼ活性報告法" (案), 臨床化学, 1996, 25(1), 15.

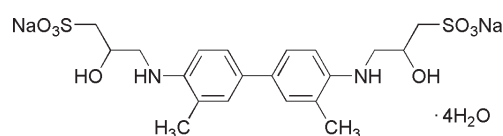
最新の情報は web へ [同仁化学 H324](#) で検索

SAT-3

N,N'-Bis(2-hydroxy-3-sulfopropyl)toluidine, disodium salt, tetrahydrate
〔CAS No. 679787-07-6〕同仁品コード：S302
1 g ¥18,600

- 規格** (1) 性状：白色～淡褐色粉末
(2) 純度 (HPLC)：95.0% 以上
(3) 水溶状：試験適合
(4) pH(25℃)：6.0～8.0
(5) 水分：9.0～14.0%
(6) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1.5 g/100 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵, 遮光

構造式

C₂₀H₂₆N₂Na₂O₈S₂ · 4H₂O=604.62

性質 エンザイムイムノアッセイにおける抗体の標識酵素としてはペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、またはガラクトシダーゼ等が用いられているが、最も汎用的に用いられているものはペルオキシダーゼ (POD) である。現在、POD 活性を測定するため多くの発色試薬が市販されている。しかし、これらの試薬は脂溶性が高いものが多く、

変異原性の危険性を持つものも含まれている。

そのため、水溶性の高い POD 基質は、環境への影響や、人体への暴露の問題も、軽減できると考えられる。SAT-3 は、従来用いられているオルトフェニレンジアミンや TMB と同じように用いる事ができ、しかも高い水溶性を持つ POD 基質である。

参考文献

- 1) M. Mizoguchi, M. Ishiyama, M. Shiga and K. Sasamoto, "Sensitive Chromogenic Substrate for Detecting Peroxidase Activity", *Anal. Commun.*, 1998, 35, 179.

最新の情報は web へ [同仁化学 S302](#) で検索

TMBZ

3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
〔CAS No. 54827-17-7〕

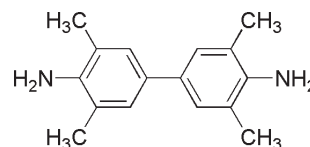
同仁品コード：T022

1 g ￥6,800 346-04031

5 g ￥24,600 342-04033

規格	(1) 性状：白色～淡灰褐色結晶性粉末
	(2) 純度 (HPLC)：99.0% 以上
	(3) メチルアルコール溶状：試験適合
	(4) モル吸光係数：24,000 以上 (287 nm 付近)
	(5) 融点：165～171℃
	(6) IR スペクトル：試験適合
溶解例	1 g/100 ml (熱メチルアルコール)

構造式

C₁₆H₂₀N₂=240.34

性質 水にはあまり溶けないが、メチルアルコールに溶ける。水溶液はほとんど無色であるが、過酸化水素、ペルオキシダーゼの存在で鋭敏に青緑色 (λ_{max}=655 nm) に発色するので、種々の生体試料中のペルオキシダーゼの検出、

定量に利用できる。従来、この目的に用いられていたベンジジン、*o*-トリジン、*o*-ジアニジン、DAB などより発色は深色移動しており、発がん性もないといわれている。

参考文献

最新の情報 webへ 同仁化学 T022 で検索

- 1) V. R. Holland, B. C. Saunders, F. L. Rose and A. L. Walpole, "A Safer Substitute for Benzidine in the Detection of Blood", *Tetrahedron*, 1974, 30, 3299.
- 2) W. Levin, D. Ryan, S. West and A. Y. H Lu, "Preparation of Partially Purified, Lipid-depleted Cytochrome P-450 and Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-cytochrome c Reductase from Rat Liver Microsomes", *J. Biol. Chem.*, 1974, 249, 1747.
- 3) P. E. Thomas, D. Ryan and W. Levin, "An Improved Staining Procedure for the Detection of the Peroxidase Activity of Cytochrome p-450 on Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gels", *Anal. Biochem.*, 1976, 75, 168.
- 4) H. H. Liem, F. Cardenas, M. Tavassoli, M. B. Poh-Fitzpatrick and U. Muller-Eberhard, "Quantitative Determination of Hemoglobin and Cytochemical Staining for Peroxidase Using 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine dihydrochloride, a Safe Substitute for Benzidine", *Anal. Biochem.*, 1979, 98, 388.
- 5) R. C. Lijana and M. C. Williams, "Tetramethylbenzidine- A substitute for Benzidine in Hemoglobin Analysis", *J. Lab. Clin. Med.*, 1979, 94, 266.
- 6) R. M. Jaffe and W. Zierdt, "A New Occult Blood Test Not Subject to False-Negative Results from Reducing Substances", *J. Lab. Clin. Med.*, 1979, 93, 879.
- 7) 吉野二男, "還元剤によっても偽陰性を示さない新しい潜血反応試薬", 臨床検査, 1980, 24, 140.
- 8) K. Suzuki, H. Ota, S. Sasagawa, T. Sakatani and T. Fujikura, "Assay Method for Myeloperoxidase in Human Polymorphonuclear Leukocytes", *Anal. Biochem.*, 1983, 132, 345.
- 9) 鈴木和男, 笹川澄子, 坂谷達一郎, 太田洋美, 大西寿, 藤倉敏夫, "自動マルチウェルリーダーを用いた酵素活性の高感度レートアッセイ法 - 多形核白血球ミエロペルオキシダーゼをモデルとして", 医学のあゆみ, 1984, 131, 163.
- 10) F. H. Pujol, I. Rodriguez, M. Devesa, R. Rangel-Aldao and F. Liprandi, "A Double Sandwich Monoclonal Enzyme Immunoassay for Detection of Hepatitis B Surface Antigen", *J. Immunol.*, 1993, 14, 21.
- 11) F. B. Serrat, "Colorimetric Method for Determination of Chlorine with 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine", *Talanta*, 1994, 41, 2091.

TMBZ・HCl

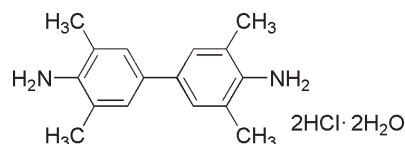
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, dihydrochloride, dihydrate
〔CAS No. 64285-73-0〕

同仁品コード：T039

1 g ￥13,400 340-06491

規格	(1) 性状：白色～微桃色結晶性粉末
	(2) 純度 (滴定)：98.0% 以上
	(3) 水溶状：試験適合
	(4) pH(25℃)：2.0～2.5
	(5) 水分：8.0～12.0%
	(6) IR スペクトル：試験適合
溶解例	200 mg/20 ml (水)
取扱注意	1. 保存方法：遮光

構造式

C₁₆H₂₂Cl₂N₂·2H₂O=349.30

性質 TMBZ の塩酸塩で、水にはよく溶けるが、有機溶媒には溶けない。吸湿性があるので、遮光密栓して保存する。

最新の情報 webへ 同仁化学 T039 で検索

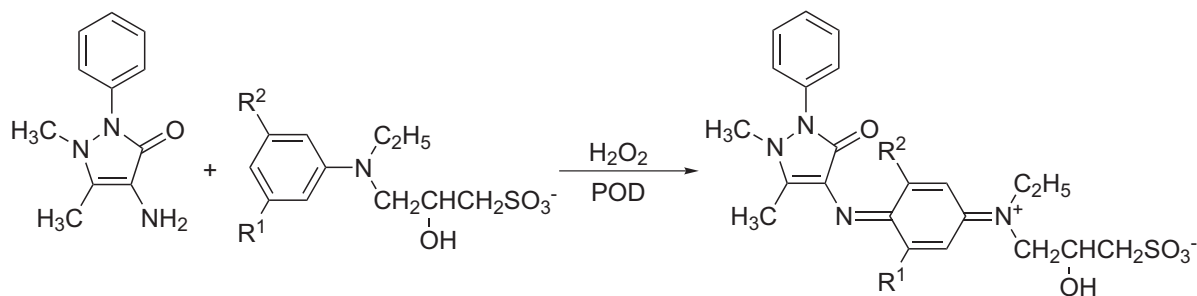
細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

10-4 酸化系発色試薬(新トリンダー試薬)

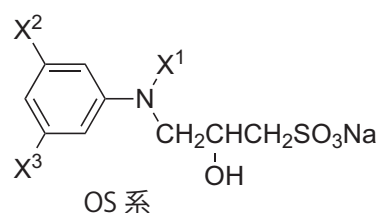
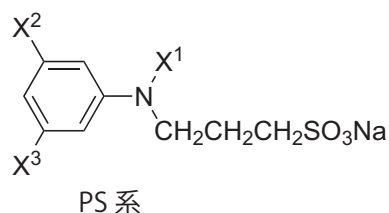
生体試料中には多くの類似物が混在している。その中の特定成分を選択的に、しかも再現よく検出するために、酵素の持つ厳密な基質特異性が利用される。たとえば、グルコースの定量ではグルコースオキシダーゼ、コレステロールの定量ではコレステロールオキシダーゼを作用させて、生成した過酸化水素(H₂O₂)を測定する。Trinderらは4-アミノアンチピリン(4-AA)とフェノールの組合せが、ペルオキシダーゼ(POD)の共存下で酸化縮合により呈色することを利用して、この微量H₂O₂を測定した。

その後、4-AAをカップラー、フェノールを水素供与体とする系は多くの研究者により検討が加えられ、ハロゲン化フェノール誘導体に感度の高いものが見出されている。これらフェノール系水素供与体を一般にトリンダー試薬と呼んでいる。

しかし最近では、フェノール系よりもアニリン系の方が感度及び波長の点で好ましいとされ、特にここで紹介するPS系、OS系は水溶性のために使いやすい。臨床分析への応用にかぎらず、海水中や天然水中のナノモル量のH₂O₂の測定にも利用されている。



4-AA と水素供与体の酸化縮合反応



化合物名	略名 (商品名)	X ¹	X ²	X ³	λ _{max} (nm) ^{*1} pH	ε × 10 ⁴ ^{*2} 相対感度
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(3-スルホプロピル)-3-メトキシアニリン	ADPS	C ₂ H ₅	OCH ₃	H	540 8.0 ~ 9.5	2.79 2.2
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(3-スルホプロピル)アニリン	ALPS	C ₂ H ₅	H	H	561 7.5 ~ 10.0	4.13 3.3
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン	TOPS	C ₂ H ₅	CH ₃	H	550 8.0 ~ 10.0	3.74 2.9
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メトキシアニリン	ADOS	C ₂ H ₅	OCH ₃	H	542 7.0 ~ 10.0	2.72 2.1
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン	DAOS	C ₂ H ₅	OCH ₃	OCH ₃	593 7.0 ~ 10.0	1.75 1.4
<i>N</i> -(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン	HDAOS	H	OCH ₃	OCH ₃	583 5.5 ~ 7.5	1.73 1.4
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン	MAOS	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	630 8.0 ~ 10.0	2.25 1.8
<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メトキシアニリン	TOOS	C ₂ H ₅	CH ₃	H	555 8.5 ~ 9.5	3.92 3.1

*1 ペルオキシダーゼ存在下、過酸化水素、4-アミノアンチピリン(4-AA)と酸化縮合(37℃, 10分間反応)した時の吸収極大波長(上段)と至適pH範囲(下段)

*2 *1の条件下でのモル吸光係数(上段)および対フェノール発色比(下段)

ADOS

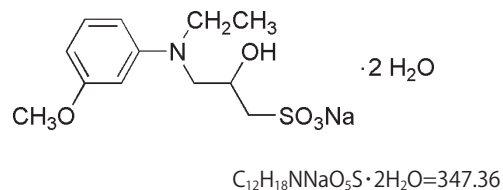
N-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methoxyaniline, sodium salt, dihydrate
〔CAS No. 82692-96-4(無水物として)〕

同仁品コード：OC01
1 g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状：白色～微灰黄色粉末
 - (2) 純度（吸光度）：97.0% 以上
 - (3) 水溶状：試験適合 0.015 以下 (600 nm)
0.030 以下 (400 nm)
 - (4) 水分：9.0～11.0%
 - (5) pH(25℃)：7.0～10.0
 - (6) IR スペクトル：試験適合

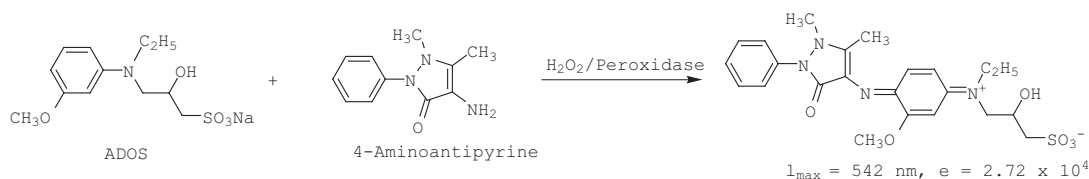
溶解例 1 g/20 ml (水)
取扱注意 1. 保存方法：遮光

構造式



性質 *N*-エチル-*m*-アニシジンの *N*-ヒドロキシルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) と

の酸化縮合色素の吸収極大波長は 542 nm で、4-AA とフェノールとの酸化発色系と比較して、吸収強度は 2.1 倍である。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, K. Ueno, K. Akiura and Y. Ohkura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Photometric Determination of Hydrogen Peroxide. II. *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)aniline derivatives", *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30(7), 2492.

最新の情報は web へ [同仁化学 OC01](#) で検索

ADPS

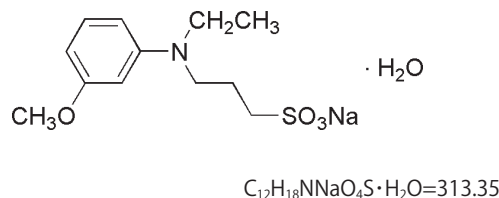
N-Ethyl-*N*-(3-sulfopropyl)-3-methoxyaniline, sodium salt, monohydrate
〔CAS No. 82611-88-9(無水物として)〕

同仁品コード：OC02
1 g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状：白色～微褐色粉末
 - (2) 水溶状：試験適合 0.015 以下 (600 nm)
0.035 以下 (400 nm)
 - (3) モル吸光係数：8,200 以上 (255 nm 付近)
 - (4) pH(25℃)：8.0～9.5
 - (5) 水分：2.8～8.6%
 - (6) IR スペクトル：試験適合

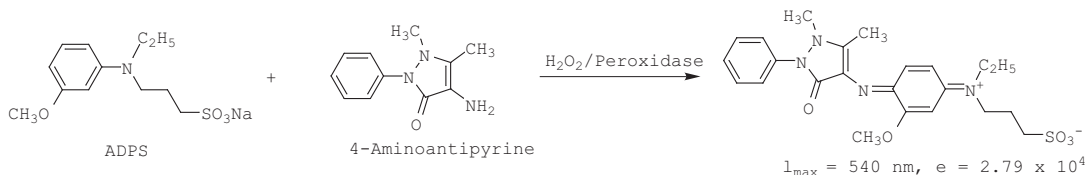
溶解例 1 g/20 ml (水)
取扱注意 1. 保存方法：遮光

構造式



性質 *N*-エチル-*m*-アニシジンの *N*-スルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合

色素の吸収極大波長は 540 nm を示す。4-AA とフェノールとの酸化発色系と比較して 2.19 倍の吸収強度である。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, Y. Murao and K. Akiura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide", *Anal. Chem. Acta*, 1982, 136, 121.

最新の情報は web へ [同仁化学 OC02](#) 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

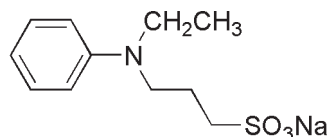
ALPS

N-Ethyl-*N*-(3-sulfopropyl)aniline, sodium salt
〔CAS No. 82611-85-6〕

同仁品コード：OC04
1 g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状：白色～微灰黄色粉末
 - (2) 水溶状：試験適合 0.015 以下 (600 nm)
0.040 以下 (400 nm)
 - (3) モル吸光係数：9,500 以上 (255 nm 付近)
 - (4) 水分：5.0% 以下
 - (5) pH(25℃)：7.5～10.0
 - (6) IR スペクトル：試験適合

構造式

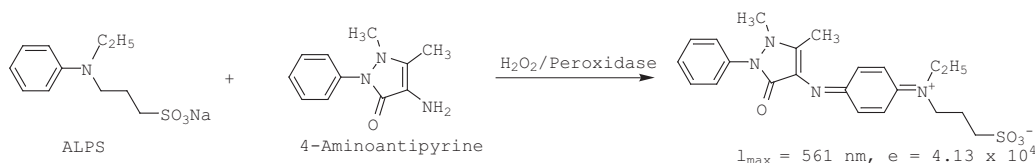


- 溶解例** 1 g/20 ml (水)
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵, 遮光

 $C_{11}H_{16}NNaO_3S=265.31$

性質 *N*-エチルアニリンの *N*-スルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合色素の吸収波長は 561 nm を示し、4-AA とフェノール系の呈色と

比べて 3.25 倍も感度が高い。ALPS を用いフローインジェクション法で雨水中の過酸化水素の定量を行った報告もある。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, Y. Murao and K. Akiura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide", *Anal. Chem. Acta*, 1982, 136, 121.
- 2) B. C. Madsen and M. S. Kromis, "Flow Injection and Photometric Determination of Hydrogen Peroxide in Rainwater with *N*-Ethyl-*N*-(sulfopropyl)aniline sodium salt", *Anal. Chem.*, 1984, 56, 2849.

最新の情報は web へ [同仁化学 OC04](#) で検索

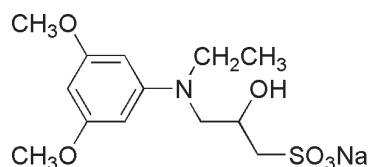
DAOS

N-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline, sodium salt
〔CAS No. 83777-30-4〕

同仁品コード：OC06
1 g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状：白色～淡青白色粉末
 - (2) 純度 (吸光度)：97.0% 以上
 - (3) 水溶状：試験適合 0.015 以下 (600 nm)
0.030 以下 (400 nm)
 - (4) 水分：1.0% 以下
 - (5) pH(25℃)：7.0～10.0
 - (6) IR スペクトル：試験適合

構造式

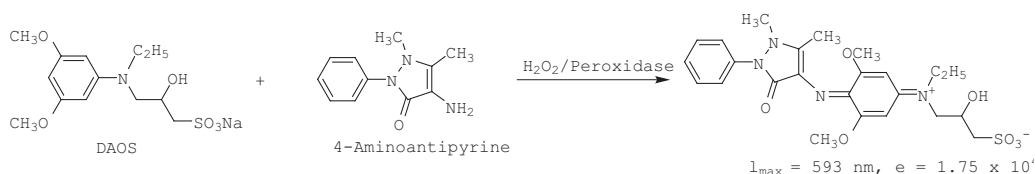


- 溶解例** 1 g/20 ml (水)
取扱注意 1. 保存方法：遮光

 $C_{13}H_{20}NNaO_6S=341.36$

性質 *N*-エチル-3,5-ジメトキシアニリンの *N*-ヒドロキシスルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合色素の吸収極大波長は 593 nm を示す。

4-AA とフェノールとの酸化縮合発色系と比較して、その吸収強度は 1.38 倍である。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, K. Ueno, K. Akiura and Y. Ohkura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Photometric Determination of Hydrogen Peroxide. II. *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)aniline derivatives", *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30(7), 2492.

最新の情報は web へ [同仁化学 OC06](#) で検索

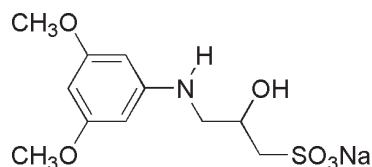
HDAOS

N-(2-Hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline, sodium salt
〔CAS No. 82692-88-4〕

同仁品コード：OC08
1 g ¥10,000

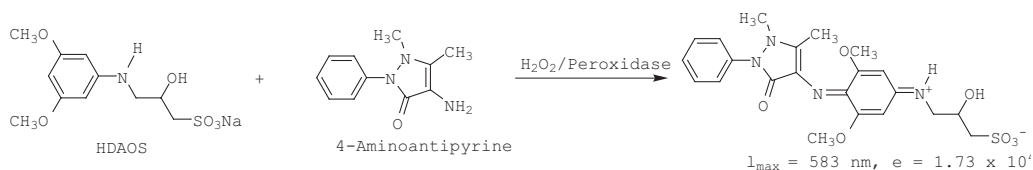
- 規格**
- (1) 性状：白色～殆ど白色粉末
 - (2) 純度（吸光度）：98.0% 以上
 - (3) 水溶状：試験適合 0.020 以下 (600 nm)
0.040 以下 (400 nm)
 - (4) pH(25℃)：5.5～7.5
 - (5) 水分：2.0% 以下
 - (6) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1 g/20 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：遮光

構造式


 $C_{11}H_{16}NNaO_6S=313.30$

性質 3,5-ジメトキシアニリンの*N*-ヒドロキシルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との

酸化縮合により生じる色素の吸収極大波長は 583 nm を示し、フェノール系と比較して、1.36 倍の吸収強度を示す。



最新の情報は web へ [同仁化学 OC08](#) で検索

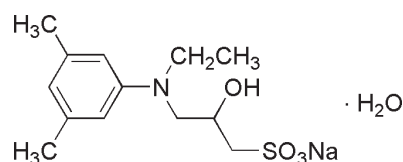
MAOS

N-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethylaniline, sodium salt, monohydrate
〔CAS No. 82692-97-5(無水物として)〕

同仁品コード：OC11
1 g ¥10,000

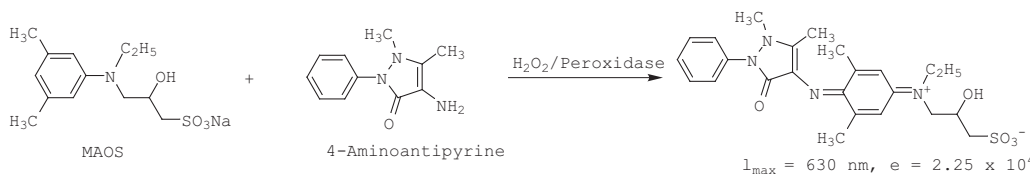
- 規格**
- (1) 性状：白色～微黄桃色粉末
 - (2) 水溶状：試験適合 0.020 以下 (600 nm)
0.050 以下 (400 nm)
 - (3) モル吸光係数：10,000 以上 (257 nm 付近)
 - (4) 水分：2.5～8.5%
 - (5) pH(25℃)：8.0～10.0
 - (6) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1 g/20 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：遮光

構造式


 $C_{13}H_{20}NNaO_4S \cdot H_2O=327.37$

性質 *N*-エチル-3,5-ジメチルアニリンの*N*-ヒドロキシルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合色素の吸収極大波長は 630 nm と最も長

波長側にある。フェノール系の発色と比較して、1.79 倍の吸収強度を示す。



最新の情報は web へ [同仁化学 OC11](#) で検索

参考文献

- 1) K. Tamaoku, K. Ueno, K. Akiura and Y. Ohkura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Photometric Determination of Hydrogen Peroxide. II. *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)aniline derivatives", *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30(7), 2492.

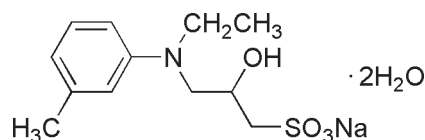
細胞増殖/毒性
酸化ストレス分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

TOOS

N-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylaniline, sodium salt, dihydrate
〔CAS No. 82692-93-1(無水物として)〕同仁品コード: OC13
1g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状: 白色~微青色粉末または結晶性粉末
 - (2) 純度(吸光度): 98.0%以上
 - (3) 水溶状: 試験適合 0.015以下(600nm)
0.040以下(400nm)
 - (4) 水分: 9.0~12.0%
 - (5) pH(25℃): 8.5~9.5
 - (6) 重金属(Pbとして): 0.0005%以下
 - (7) 鉄(Fe): 0.0005%以下
 - (8) IRスペクトル: 試験適合

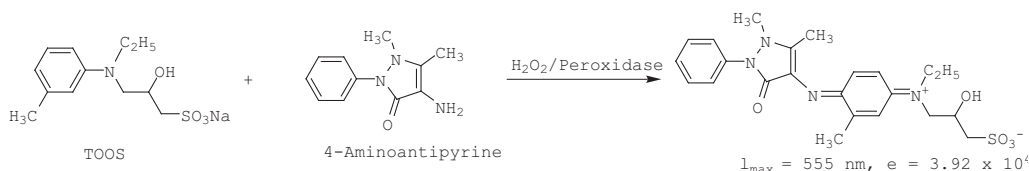
構造式

 $C_{12}H_{18}NNaO_4S \cdot 2H_2O = 331.36$

溶解例 1g/20ml(水)
取扱注意 1. 保存方法: 遮光

性質 *N*-エチル-*m*-トルイジンの*N*-ヒドロキシシルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン(4-AA)との酸化縮合反応による呈色は555nmに極大吸収波長をも

つ。フェノール系と比較して、3.08倍の吸収強度を示し、酸化酵素を用いた生体試料の定量に広く用いられている。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, K. Ueno, K. Akiura and Y. Ohkura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Photometric Determination of Hydrogen Peroxide. II. *N*-Ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)aniline derivatives", *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30(7), 2492.

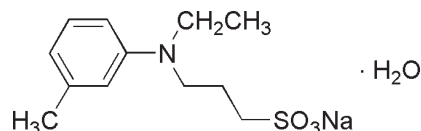
最新の情報は webへ 同仁化学 OC13 で検索

TOPS

N-Ethyl-*N*-(3-sulfopropyl)-3-methylaniline, sodium salt, monohydrate
〔CAS No. 40567-80-4(無水物として)〕同仁品コード: OC14
1g ¥10,000

- 規格**
- (1) 性状: 白色~微青色粉末
 - (2) 純度(吸光度): 97.0%以上
 - (3) 水溶状: 試験適合 0.015以下(600nm)
0.040以下(400nm)
 - (4) 水分: 4.0~7.0%
 - (5) pH(25℃): 8.0~10.0
 - (6) 重金属(Pbとして): 0.0005%以下
 - (7) 鉄(Fe): 0.0005%以下
 - (8) IRスペクトル: 試験適合

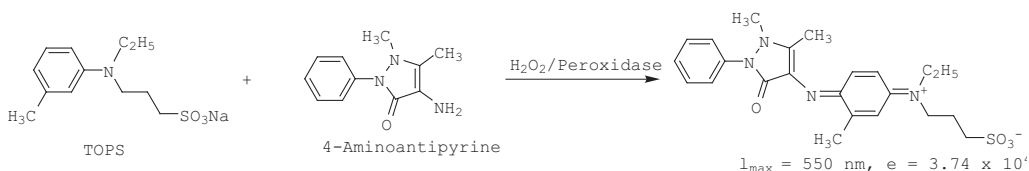
構造式

 $C_{12}H_{18}NNaO_3S \cdot H_2O = 297.34$

溶解例 1g/20ml(水)
取扱注意 1. 保存方法: 遮光

性質 *N*-エチル-*m*-トルイジンの*N*-スルホプロピル誘導体である。4-アミノアンチピリン(4-AA)との酸化縮合

反応による呈色は550nmに極大吸収波長をもつ。



参考文献

- 1) K. Tamaoku, Y. Murao and K. Akiura, "New water-soluble Hydrogen Donors for the Enzymatic Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide", *Anal. Chim. Acta*, 1982, 136, 121.

最新の情報は webへ 同仁化学 OC14 で検索

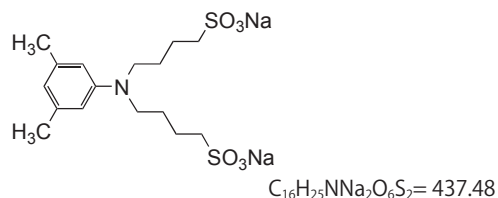
MADB

N,N-Bis(4-sulfobutyl)-3,5-dimethylaniline, disodium salt
〔CAS No. 209518-16-1(無水物として)〕

同仁品コード：OC21
1 g ¥12,400

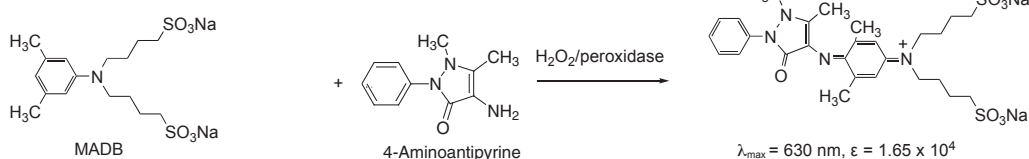
- 規格** (1) 性状：白色～微褐色粉末
(2) 純度 (HPLC)：97.0% 以上
(3) 水溶状：試験適合
(4) 薄層クロマトグラフィー：試験適合
(5) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 100 mg/10 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵、遮光
2. 吸湿注意

構造式



性質 3,5-ジメチルアニリンの *N,N*-ビススルホブチル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合

反応による呈色は 630 nm に極大吸収波長をもつ。



最新の情報は web へ [同仁化学 OC21](#) で検索

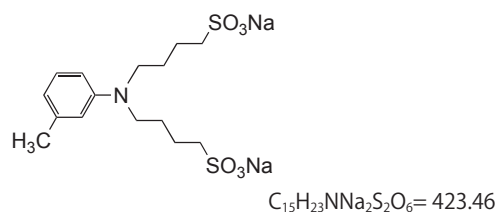
TODB

N,N-Bis(4-sulfobutyl)-3-methylaniline, disodium salt
〔CAS No. 1044537-70-3(無水物として)〕

同仁品コード：OC22
1 g ¥12,400

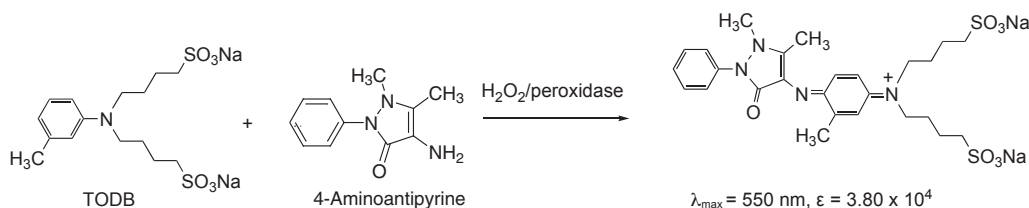
- 規格** (1) 性状：白色～灰微黄白色粉末
(2) 純度 (HPLC)：98.0% 以上
(3) モル吸光係数：9,900 以上 (257 nm 付近)
(4) 水溶状：試験適合
(5) 水分：4.5 ~ 7.5%
(6) pH(25°C)：8.5 ~ 9.5
(7) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 100 mg/10 ml (水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵、遮光

構造式



性質 3-メチルアニリンの *N,N*-ビススルホブチル誘導体である。4-アミノアンチピリン (4-AA) との酸化縮合反

応による呈色は 550 nm に極大吸収波長をもつ。



最新の情報は web へ [同仁化学 OC22](#) で検索