

ぶんせき 11

Bunseki 2025

The Japan Society for Analytical Chemistry



日本分析化学会
<https://www.jsac.jp>

MassWorksTM Version 7.0

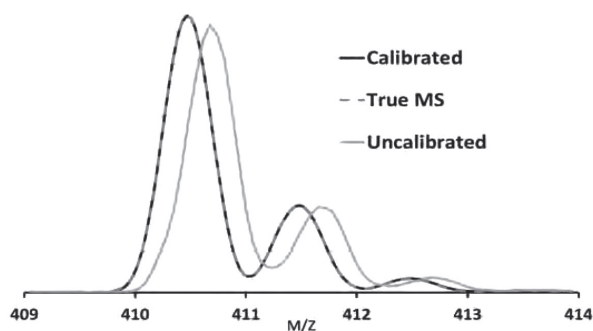
質量分析計の性能を限界まで引き出します

これまでのバージョンで築き上げられた実績をさらに進化させ、MassWorksTM 7.0 は、取得後のデータ処理に特化した使いやすいソフトウェアパッケージとして登場しました。本製品は、Cerno社が特許を取得している TrueCalTM 技術を採用し、ユニット質量分解能の一般的な質量分析計においても、高い質量精度とスペクトル精度を実現し、CLIPSTM フォーミュラサーチ機能により元素組成の同定を可能にします。さらに、MassWorks の sCLIPSTM および BestScanTM sCLIPS 機能は、標準物質を使用することなく正確なピーク形状補正を行うことで、高いスペクトル精度を提供します。

CLIPS検索により、ユニット分解能のGC及びLC/MS機器で正確な質量式検索が可能になります。

CLIPS (Calibrated Line-shape Isotope Profile Search) は、比類のない質量精度と最高のスペクトル精度を組み合わせ、四重極 MS を最大限に活用します。

- 質量精度が 0.x Da から 0.00x Da まで 100 倍向上
- クロマトグラフィー時間スケールで 99% を超えるスペクトル精度を実現
- 低分解能の装置でも正確な 化学式ID が可能
- 未分離 MS 信号の強力な混合分析

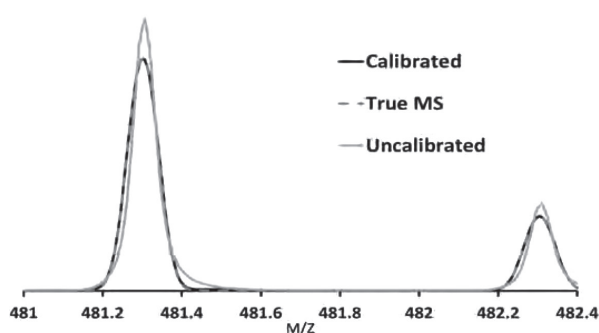


MassWorks は、強力な TrueCal キャリブレーション技術を搭載しており、ユニット分解能システムにおいて質量精度を最大100倍向上させることができます。さらに、高分解能およびユニット分解能の両方のシステムで、最大99.9%のスペクトル精度 (Spectral Accuracy) を実現します。この高速かつ柔軟なMSアプリケーションソフトウェアパッケージは、質量精度とスペクトル精度を組み合わせることで、あらゆる種類のMSデータ (高分解能・低分解能の両方) に対し、Cernoの解析手法によって大幅な改善をもたらします。

高分解能MSのsCLIPS検索では、校正化合物を必要とせず、化学式IDのスペクトル精度を大幅に向上させます。

sCLIPS (自己校正線形同位体プロファイル検索) を使用すると、高解像度の TOF、Orbitrap、または FT-ICR を最大限に活用できます。

- 独自の特許取得済みセルフキャリブレーションプロセス
- 数学的に正確な同位体モデリング
- 適切に設計および運用されたシステムで達成可能な 99% 以上のスペクトル精度
- 化学式ID の質量精度を超える
- 最大 95~99% の誤った式を排除可能
- 未解決の MS 信号による強力な混合物分析



New for MassWorks Version 7

MassWorks バージョン 7 は、処理速度が向上し、安定性も高まった 64 ビット Windows アプリケーションとして新たに登場しました。更新されたファイルリーダーにより、MassWorks はほとんどの主要ベンダーのデータを直接読み込むことが可能になり、さらに業界標準の NetCDF 交換形式にも対応しました。また、多くの新機能の一つとして、「MassLabTM」アプリが追加されました。これらのカスタムアプリは Python または Matlab により作成でき、たとえば高分子特性評価用の新しい機能「SAMMITM」を MassWorks に追加することができます。SAMMITM は、従来の四重極アルゴリズムに比べて最大 30 倍の高精度を実現し、高分解能機器に匹敵する精度を提供します。

cerno
BIOSCIENCE

ST.JAPAN INC.

株式会社 エス・ティ・ジャパン

URL: <https://www.stjapan.co.jp>

東京本社／

〒103-0014 東京都中央区日本橋蛸殻町1-14-10

TEL: 03-3666-2561 FAX: 03-3666-2658

大阪支店／

〒540-6127 大阪府大阪市中央区城見2-1-61 ツイン21 MIDタワー

TEL: 06-6949-8444 FAX: 06-6449-8445

ぶんせき Bunseki 2025 Contents 11

目次

とびら	専門分野を越えた交流／井倉 則之 345
入門講座	分析におけるコンタミネーション・キャリアオーバー対策 超純水を使った分析で気を付けること／高橋 あかね 346
ミニファイル	分析用試薬 試薬の有害性情報／橋本 剛 353
特集	分析化学の貢献を期待して～異分野領域の最新研究～ 355 分析化学に向けたハイエントロピー合金／西島 喜明 356 ゼオライトにおける超秩序構造と高機能化へ向けた制御の検討 ／伊與木 健太 363 深共晶溶媒について／岡村 浩之 368 がん選択的ホウ素中性子捕捉療法を企図した多重標的型ポリロタキサン ／東 大志・荒瀬 春輝・伊敷 帆夏・本山 敬一 373 組織切片を測定試料とする化学物質の組織内局所分析／輿石 一郎 377 疾患関連細胞外小胞の分類と解析技術／森田 那奈架・岡本 葵・竹内 啓晃 382 真菌の化学的分類法／佐藤 一郎・村山 琮明 388 光免疫療法の基礎と展開／小川 美香子 395 バイオ材料工学技術による再生腸組織の作製／土戸 優志 400 NMR を活用した農畜水産物・食品の非破壊・網羅的成分分析 ／伊藤 研悟 405 D-アミノ酸が拓く新たな世界／唐川 幸聖 413 ペプチド吸着制御 LC の開発と創薬への貢献／合田 竜弥 417 迅速かつ省力的な高病原性鳥インフルエンザ遺伝子検査法の開発 ／宮澤 光太郎 422 人工遺伝子・長鎖 DNA の合成と分析が支える遺伝子治療の発展 ／山田 尚之 429 トピックス 水中微量成分検出のための電気化学的シグナル増幅戦略／佐藤 海 434 特定トポロジーのグアニン四重鎖を検出するプローブ分子／宇田 亮子 434 リレーエッセイ リケジョのバトンをつなぐ／安田 みどり 435 ロータリー 436 インフォメーション：長谷川亭パーティー人生談話会～亭主を励ます会の巻～； 2025 年度 CERI クロマトグラフィー分析賞受賞者；2025 年液体クロマトグラフィー 科学遺産認定；2026 年液体クロマトグラフィー努力賞／執筆者のプロフィール

〔論文誌目次〕	441
〔お知らせ〕	M1
〔カレンダー〕	iii

〔広告索引〕	A5
〔ガイド〕	A6

放射能測定の信頼性を確保する放射能標準物質を開発 —牛肉および魚類放射能分析用認証標準物質—

(公社)日本分析化学会では、2011年3月の原発事故により広く飛散した放射性物質の放射能濃度を信頼性高く定量するための認証標準物質を開発し頒布中である。開発された標準物質は、国内の信頼ある分析機関の計量トレーサビリティが確保された測定機により求められた値に基づく共同分析により JIS Q0035(ISO ガイド 35)に準拠して認証値および不確かさが決定された。

1) 放射能分析用牛肉認証標準物質

(低濃度: JSAC 0753, 0754, 高濃度: JSAC 0751, 0752)

○認証値と拡張不確かさ U (包含係数 $k = 2$) 基準日: 2012年11月19日

	低濃度	高濃度
^{134}Cs 放射能濃度 (Bq/kg):	63 ± 6	174 ± 12
^{137}Cs 放射能濃度 (Bq/kg):	106 ± 9	297 ± 20
^{40}K 放射能濃度 (Bq/kg):	283 ± 54	276 ± 46

○充填容器と価格

JSAC 0753, 0751:100 ml 容器用 20,000 円, JSAC 0754, 752:1 L 容器用 100,000 円 (価格はいずれも本体価格、送料込み・消費税別)

2) 放射能分析用魚類認証標準物質

(魚肉: JSAC 0781, 0782, 0783, 魚骨: JSAC 0784, 0785)

○認証値と拡張不確かさ U (包含係数 $k = 2$) 基準日: 2014年11月1日

	魚肉	魚骨
^{134}Cs 放射能濃度 (Bq/kg):	62 ± 5	141 ± 10
^{137}Cs 放射能濃度 (Bq/kg):	196 ± 14	445 ± 29
^{40}K 放射能濃度 (Bq/kg):	349 ± 29	783 ± 43
^{90}Sr 放射能濃度 (Bq/kg):	—	11.5 ± 1.2

○充填容器と価格

JSAC 0781:U8 容器(50 mm 高さ) 20,000 円, JSAC 0782, 0785:100 mL 容器 20,000 円,
JSAC 0783:1 L 容器 100,000 円, JSAC 0784:U8 容器は 1 回 5,000 円のレンタル品(価格はいずれも本体価格、送料込み・消費税別)

*** 内容に関する問い合わせ先:** (公社)日本分析化学会 標準物質係 TEL: 03-3490-3351, FAX: 03-3490-3572, E-mail: crmpt@ml.jsac.or.jp, <http://www.jsac.jp/srm/srm.html/>

*** 頒布に関する問い合わせ先:** 西進商事(株)東京支店, TEL: 03-3459-7491, FAX: 03-3459-7499, E-mail: info@seishin-syoji.co.jp, <http://www.seishin-syoji.co.jp/>



写真左 ポリエチレン袋に装填された牛肉認証標準物質



写真右 U8 容器(50 mm 高さ), 100 mL 容器, 1 L 容器に充填された魚肉認証標準物質

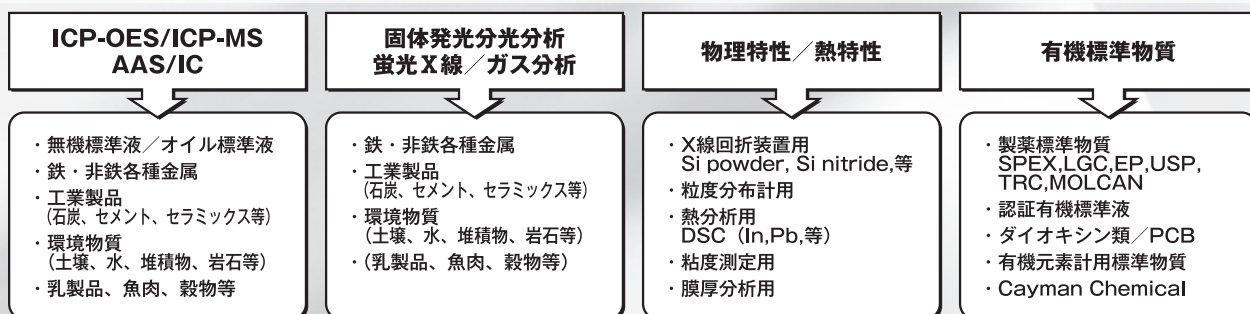
カレンダー

2025 年

11 月	1～30 日	第 80 回表面科学基礎講座「表面・界面分析の基礎と応用」〔オンライン〕……………(M 3)
	4 日	第 4 回標準化セミナー「ろ布および乾式ろ過集じん装置の性能評価試験の標準化とその応用展開」〔ウイנקあいち〕……………(9 号 M5)
	6 日	電気化学セミナー C 「電気化学界面における計測・評価技術の最前線」〔オンサイト・オンラインハイブリッドセミナー (オンサイト会場：東京理科大学神楽坂キャンパス 1 号館 17 階記念講堂)]……………(10 号 M11)
	6・7 日	ナノ材料の総合分析講習〔大阪工業大学大宮校区〕……………(8 号 M7)
	7 日	第 308 回ゴム技術シンポジウム「基礎から学ぶゴム分析と最新応用技術」〔東部ビル 5 階〕……………(10 号 M12)
	7 日ほか	2025 年度公益社団法人日本金属学会関東支部講習会「腐食・防食の基礎と最前線」〔オンライン〕……………(10 号 M12)
	7～10 日	第 41 回シクロデキストリンシンポジウム・第 12 回アジアシクロデキストリン国際会議 (合同開催) 12th Asian Cyclodextrin Conference in Conjunction with the 41st National Cyclodextrin Symposium, Japan〔同志社大学今出川キャンパス〕……………(2 号 M3)
	12 日	第 54 回薄膜・表面物理基礎講座 (2025) 「自動計測・自律実験とデータ駆動型解析による薄膜表面物理の新展開」〔東京理科大学神楽坂キャンパス森戸記念館 (第 2 フォーラム)]……………(9 号 M5)
	12・13 日	第 54 回電気化学講習会 現場で効く電気化学の基礎 ～基礎理論から計測・解析の実務まで～〔キャンパスプラザ京都第 1 講義室〕……………(M 3)
	12・13 日	第 38 回日本吸着学会研究発表会〔J:COM ホルトホール大分〕……………(8 号 M9)
	12～14 日	第 41 回近赤外フォーラム〔東京大学弥生講堂〕……………(6 号 M3)
	12～14 日	第 46 回超音波エレクトロニクス基礎と応用に関するシンポジウム The 45th Symposium on UltraSonic Electronics〔くにびきメッセ〕……………(6 号 M3)
	12～14 日	第 15 回イオン液体討論会〔千葉大学けやき会館〕……………(9 号 M5)
	13・14 日	日本金属学会オンライン教育講座「凝固の科学」〔オンライン〕……………(M 3)
	13～15 日ほか	KISTEC Innovation Hub 2025 研究成果発表交流会〔KISTEC 海老名本部, 産業貿易センタービル, LiSE〕……………(9 号 M5)
	14 日	日本希土類学会第 43 回講演会〔崎陽軒本店会議室 1 号室〕……………(9 号 M5)
	15 日	2025 年北海道地区化学教育研究協議会〔北海道教育大学札幌駅前サテライト〕……………(10 号 M3)
	17 日	第 258 回西山記念技術講座「カーボンニュートラル社会実現のためのエネルギー材料における科学基盤と開発最前線」〔東京/鉄鋼会館会議室〕……………(4 号 M6)
	19・20 日	第 30 回高分子分析討論会 (高分子の分析及びキャラクタリゼーション)〔明治大学駿河台キャンパス〕……………(10 号 M3)
	21 日	第 413 回液体クロマトグラフィー研究懇談会〔日立ハイテクアナリシスサイエンスソリューションラボ東京〕……………(10 号 M7)
	26 日	第 76 回白石記念講座 鉄鋼業への貢献が期待される CCUS 技術 (1) ― CO ₂ 分離回収・炭素循環技術―〔鉄鋼会館会議室〕……………(7 号 M7)
	26 日	第 393 回ガスクロマトグラフィー研究懇談会講演会〔北とびあ 13 階飛鳥ホール〕……………(10 号 M8)
	27・28 日	日本膜学会「膜シンポジウム 2025」“膜を究める”〔関西大学 100 周年記念会館〕……………(9 号 M5)
	28 日	赤外ラマン研究部会セミナー「振動分光学の研究最前線」〔京都大学化学研究所共同研究棟大セミナー室〕……………(10 号 M12)
12 月	1～1/11 日	第 16 回社会人のための表面科学ベーシック講座〔オンライン〕……………(M 3)
	3 日	実用表面分析セミナー 2025〔神戸大学百年記念館六甲ホール〕……………(M 3)
	3～5 日	VACUUM2025 真空展〔東京ビッグサイト〕……………(10 号 M12)
	4・5 日	LC&LC/MS-DAYs 2025 ～自己研鑽・公的資格取得・ヒューマンネットワーク〔東レ総合研修センター〕……………(10 号 M8)
	4・5 日	第 40 回分析電子顕微鏡討論会〔オンライン〕……………(10 号 M12)
	5 日	第 19 回茨城地区分析技術交流会〔水戸市民会館南側 3 階大会議室および 2 階展示室〕……………(9 号 M3)
	5・6 日	第 4 回 LC シニアクラブ〔第 1 部～第 4 部：東レ総合研修センター, 第 5 部：JR「三島」駅付近の名所探訪〕……………(10 号 M10)
	9 日	新アミノ酸分析研究会第 15 回学術講演会〔味の素 川崎事業所クライアント・イノベーション・センター (CIC)]……………(9 号 M5)
	12 日	第 63 回高分子と水に関する討論会〔東京都市大学世田谷キャンパス〕……………(7 号 M7)
	16・17 日	第 12 回分散凝集科学技術講座 分散・凝集のすべて ―希薄系から濃厚系までのあらゆる分散・凝集現象に関わる研究者・技術者のための最新理論とテクニック―〔オンライン〕……………(M 3)
	17 日	第 414 回液体クロマトグラフィー研究懇談会〔島津製作所東京支社イベントホール〕……………(9 号 M3)
2026 年	1 月	2025 年度イオンクロマトグラフィー分析士 (初段) 試験〔リモートによる筆記試験〕……………(M 2)
	28～30 日	nano tech 2026 第 25 回国際ナノテクノロジー総合展・技術会議 イノベーションで未来のビジネスを拓く〔東京ビッグサイト〕……………(7 号 M7)
2 月	18・19 日	第 31 回 LC&LC/MS テクノプラザ〔北とびあ・ペガサスホール (15F)]……………(10 号 M10)
3 月	5・6 日	第 46 回分析化学における不確かさ研修プログラム〔日本電気計器検定所本社〕……………(M 1)
6 月	6・7 日	第 23 回ホスト・ゲスト・超分子化学シンポジウム (SHGSC 2026) 「分子化学と生物機能分子をつなぐ超分子化学 ―分子認識から生命機能発現・応用まで」〔大阪大学豊中キャンパス〕……………(8 号 M9)

各種標準物質 (RM, CRM)

PFAS関連 (EPA 1633対応など)、RoHS (MCCPs、TBBPA)、REACH規則 (PAHs) など取り扱っております。
核燃料関連 (ウラン、トリウム、プルトニウム)、環境中放射能標準物質などもございます。



Cole-Parmer 社 (旧 SPEX 社) 前処理機 (フリーザーミル・ボールミル)

凍結粉碎機 (Freezer/Mill)

粉碎容器にインバクター (粉碎棒) とサンプルを一緒に入れ、液体窒素にてサンプルを常時凍結させて運転を開始します。
インバクターを磁化させ、往復運動させる事による衝撃でサンプルを粉碎します。
やわらかいサンプルや熱に弱い生体サンプルに最適です。

〈サンプル例〉プラスチック、ゴム、生体サンプルなど、
〈使用例〉ICP, XRF, GC, LCの前処理 DNA/RNAの抽出の前処理

ボールミル (Mixer/Mill)

SPEX独自の8の字運動により、効率的な粉碎、混合が可能。
サンプルに合った粉碎容器、ボールを選択可能。

〈サンプル例〉岩石、植物、錠剤、合金など
〈使用例〉ICP, XRFの前処理 メカニカルアロイニング



Environmental Express社 不純物証明&目盛つき容器 50mL



Environmental Express社製ポリプロピレンチューブの特長

CertiTube

- ・不純物濃度証明書と公差証明書が付属
⇒メスアップや保存容器として使用でき容器の移し替えをする作業(手間、時間)を削減できます。
- ・ガラス器具由来の金属コンタミリスクも軽減できます！
110℃の耐熱性があり分解容器としても使用できます。
※130℃以上の温度では使用できません。
- ・容器本体とキャップの材質が同じ商品です。
- ・Certi Tubeはディスポーザブルで使用可能な価格設定です。

UltiTube

- ・超高純度UltiTubeは、68元素ppbおよびpptの低濃度が保証され、より低ブランクの測定を実現します。



試料名	試料番号	試料重量 (g)	試料体積 (mL)	試料濃度 (ppm)	試料濃度 (ppb)	試料濃度 (ppt)
試料1	1	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料2	2	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料3	3	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料4	4	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料5	5	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料6	6	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料7	7	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料8	8	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料9	9	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000
試料10	10	0.1000	0.1000	1.000	1000	1000

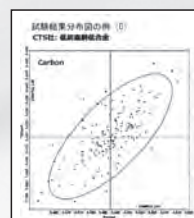
海外技能試験輸入代行サービス

技能試験 (外部精度管理) とは・・・

技能試験提供機関が提供する未知サンプルを分析することによって、分析者の分析技能を測るテストです。
分析能力に関して中立的な評価が得られ、国内外の参加試験所と分析能力の比較が出来ます。

〈メーカー/サンプル例〉

- ・LGC (ドイツ)：環境・食品・飲料・アルコール・微生物・化粧品・製薬・オイル・飼料
- ・CTS (アメリカ)：鉄鋼・非鉄・樹脂
- ・iis (オランダ)：ポリマー (化学試験)・繊維・化粧品
- ・NIL (中国)：ポリマー (化学試験・物性試験) 鉄鋼原料
- ・NSI (アメリカ)：飲料水・環境・食品・微生物・製薬
- ・PTP (フランス)：非鉄関連・航空宇宙関連試験
- ・TESTVERITAS (フランス)：食品・食肉・野菜



YouTubeチャンネル【西進商事公式】

弊社取り扱い製品の情報を公開中です。(順次アップロード予定)



SEISHIN

標準物質専門商社

西進商事株式会社

https://www.seishin-syoji.co.jp/

本社 〒650-0047 神戸市中央区港島南町1丁目4番地4号
TEL.(078)303-3810 FAX.(078)303-3822
東京支店 〒105-0012 東京都港区芝大門2丁目12番地7号 (RBM芝パークビル)
TEL.(03)3459-7491 FAX.(03)3459-7499
名古屋営業所 〒450-0002 名古屋市中村区名駅4丁目2番25号 (名古屋ビルディング桜館4階)
TEL.(052)586-4741 FAX.(052)586-4796
北海道営業所 〒060-0002 札幌市中央区北二条西1丁目10番地 (ピア2・1ビル)
TEL.(011)221-2171 FAX.(011)221-2010

Explore with Confidence

マルチチャンネル赤外顕微鏡 IRT-7X は、圧倒的な観察画質の向上と高速化されたリニアアレイ検出器の高次元デジタル処理により、より高速で高精細な赤外イメージングを実現しました。異物解析や材料研究における“観る・測る・解析する”を次の次元へ導きます。

Fast IR Imaging - 高精度なケミカルイメージを高速に -

High Quality Observation - 高品質の観察画像 -

Automation & Usability - 自動化と使いやすさの追求 -

Unique Technique - 日本分光独自のソリューション -

Various Analysis - 多様な解析ツール -

New

Multichannel Infrared Microscope

マルチチャンネル赤外顕微鏡

IRT-7X



光と技術で未来を見つめる

日本分光

日本分光株式会社

〒192-8537 東京都八王子市石川町 2967-5
TEL 042(646)4111 内
FAX 042(646)4120

日本分光の最新情報はこちらから

<https://www.jasco.co.jp>

JASCO



高分子材料分析の強力な戦力！
マルチショット・パイロライザー

EGA/PY-3030D

未知試料へ多面的にアプローチ

発生ガス分析や瞬間熱分析などの組み合わせにより
未知試料を多面的に熱分解GC/MS分析

前処理なしで迅速に分析

あらゆる形態のポリマー試料を煩雑な前処理なしで
簡単・迅速に分析

高性能で高信頼

サーモグラムとパイログラムの高い再現性を保証

豊富な周辺装置

目的に合わせて選べる周辺装置で分析業務をサポート

微量ポリマーの検出感度が大幅向上！
スプリットレス熱分解用オプション装置
MFS-2015E

キャピラリーGC分析における中・高沸点領域の
ピーク形状を大幅改善！
スマートプレカラム **NEW**

試料水中のマイクロプラスチックを簡単に捕集！
捕集から測定までスムーズな操作を実現
Smart 微粒子コレクター **NEW**



迅速凍結粉碎装置 IQ MILL-2070

簡単操作！扱いやすい卓上型の粉碎装置

静かな作動音 … 周辺での会話が可能（粉碎時の騒音参考値 55 dB）

短時間 & パワフルに粉碎 … 高速上下ねじれ運動による効率的な粉碎

試料に合わせた細かな条件設定 … 粉碎速度/時間/サイクル数の設定
種類豊富な粉碎子と容器

液体窒素消費量が少なく省エネ … 液体窒素の最小消費量は約300 mL

DNA抽出用に細胞破碎を効率化する専用モデルもございます

高分子材料や生体試料などの
粉碎・攪拌・分散に最適



製品情報

フロンティア・ラボ 株式会社

www.frontier-lab.com/jp info@frontier-lab.com

高性能の熱分解装置と金属キャピラリーカラムの開発・製品化に専念して、洗練された製品をお届けしています

ポリマー分析用試料キット

ポリマーサンプルキット205

<1セット 100本入・10-20g/1本>

100本の構成ポリマーは汎用性ポリマー試料だけでなくエンブラ試料も含まれておりますのでIR分析等のライブラリーへの収録にご利用いただけるポリマー分析試料キットです。

スペックとして：引火点・平均分子量・屈折率・ガラス転移点・融解温度等の情報がございます。

100種類の試料の一部試料については入れ替えも可能です。

詳しくはお問い合わせ下さい。



Cap No.	Cat No.	Polymer
1	053	Acrylonitrile/butadiene copolymer - 22% acrylonitrile
2	054	Acrylonitrile/butadiene copolymer - 22% acrylonitrile
3	530	Acrylonitrile/butadiene copolymer - 51% acrylonitrile
4	209	Butyl methacrylate/isobutyl methacrylate copolymer
5	660	Cellulose
6	083	Cellulose acetate
7	077	Cellulose acetate butyrate
8	321	Cellulose propionate
9	1078	Cellulose triacetate
10	459	Ethyl cellulose - Viscosity 4cp (5% solution @ 25°C)
11	464	Ethyl cellulose - Viscosity 22cp (5% solution @ 25°C)
12	460	Ethyl cellulose - Viscosity 300cp (5% solution @ 25°C)
13	534	Ethylene/acrylic acid copolymer - 15% acrylic acid
14	455	Ethylene/ethyl acrylate copolymer - 18% ethyl acrylate
15	939	Ethylene/methacrylic acid copolymer - 12% methacrylic acid
16	243	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 14% vinyl acetate
17	244	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 18% vinyl acetate
18	316	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 28% vinyl acetate
19	246	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 33% vinyl acetate
20	326	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 40% vinyl acetate
21	784	Ethylene/vinyl acetate copolymer - 45% vinyl acetate
22	959	Ethylene/vinyl alcohol copolymer - 38% ethylene
23	143	Hydroxyethyl cellulose
24	401	Hydroxypropyl cellulose
25	423	Hydroxypropyl methyl cellulose - 10% hydroxypropyl, 30% methoxyl
26	144	Methyl cellulose
27	374	Methyl vinyl ether/maleic acid copolymer - 50/50 copolymer
28	317	Methyl vinyl ether/maleic anhydride - 50/50 copolymer
29	034	Nylon 6 Poly(caprolactam)
30	033	Nylon 6/6 Poly(hexamethylene adipamide)
31	313	Nylon 6/12 Poly(hexamethylene dodecanediamide)
32	006	Nylon 11 Poly(undecanamide)
33	044	Nylon 12 [Poly(laurylactam)]
34	045A	Phenoxy resin
35	009	Polyacetal
36	001	Polyacrylamide
37	1036	Polyacrylamide, carboxyl modified, high carboxyl content
38	026	Poly(acrylic acid) - Approx Mw 450,000
39	599	Poly(acrylic acid) - Approx Mw 4,000,000
40	134	Polyacrylonitrile
41	385	Polyamide resin
42	128	Poly(1-butene), isotactic
43	962	Poly(butylene terephthalate)
44	111	Poly(n-butyl methacrylate)
45	1029	Polycaprolactone
46	954	Polycarbonate - Approx Mw 36,000
47	035	Polycarbonate - Approx Mw 45,000
48	126	Poly(2,6-dimethyl-p-phenylene oxide)
49	324	Poly(4,4'-dipropoxy-2,2'-diphenyl propane fumarate)
50	558	Polyethylene

Cap No.	Cat No.	Polymer
51	107	Polyethylene, chlorosulfonated
52	042	Polyethylene, low density
53	405	Polyethylene, oxidized
54	491	Poly(ethylene glycol)
55	136A	Poly(ethylene oxide) - Approx Mw 100,000
56	136E	Poly(ethylene oxide) - Approx Mw 400,000
57	113	Poly(ethyl methacrylate)
58	414	Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) - Approx Mw 300,000
59	815	Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) - Approx Mw 1,000,000
60	112	Poly(isobutyl methacrylate)
61	106	Polyisoprene, chlorinated
62	037B	Poly(methyl methacrylate) - Approx Mw 75,000
63	037D	Poly(methyl methacrylate) - Approx Mw 540,000
64	382	Poly(4-methyl-1-pentene)
65	391	Poly(p-phenylene ether-sulphone)
66	090	Poly(phenylene sulfide)
67	130	Polypropylene, isotactic
68	1024	Polystyrene, Mw 1,200
69	039A	Polystyrene - Approx Mw 260,000
70	574	Polystyrene sulfonate, sodium salt
71	046	Polysulfone
72	203	Poly(tetrafluorobutylene)
73	166	Poly(2,4,6-tribromostyrene)
74	347	Poly(vinyl acetate) - Approx Mw 150,000
75	1040	Poly(vinyl acetate) - Approx Mw 500,000
76	336	Poly(vinyl alcohol), 88% hydrolyzed
77	352	Poly(vinyl alcohol), 98% hydrolyzed
78	361	Poly(vinyl alcohol), 99% hydrolyzed
79	043	Poly(vinyl butyral)
80	038	Poly(vinyl chloride)
81	353	Poly(vinyl chloride), carboxylated - 1.8% carboxyl
82	102	Poly(vinylidene fluoride)
83	840	Poly(4-vinylpyridine), linear
84	416	Poly(4-vinylpyridine-co-styrene)
85	132	Polyvinylpyrrolidone - Approx Mw 360,000
86	494	Styrene/acrylonitrile copolymer - 25% acrylonitrile
87	495	Styrene/acrylonitrile copolymer - 32% acrylonitrile
88	393	Styrene/allyl alcohol copolymer
89	057	Styrene/butadiene copolymer, ABA block
90	595	Styrene/butyl methacrylate copolymer
91	453	Styrene/ethylene-butylene copolymer, ABA block
92	1067	Styrene/isoprene copolymer, ABA block
93	457	Styrene/maleic anhydride copolymer
94	049	Styrene/maleic anhydride copolymer - 50/50 copolymer
95	068	Vinyl chloride/vinyl acetate copolymer - 10% vinyl acetate
96	063	Vinyl chloride/vinyl acetate copolymer - 12% vinyl acetate
97	911	Vinyl chloride/vinyl acetate/hydroxypropyl acrylate - 80% vinyl chloride, 5% vinyl acetate
98	058	Vinylidene chloride/vinyl chloride copolymer - 5% vinylidene chloride
99	369	n-Vinylpyrrolidone/vinyl acetate copolymer - 60/40 copolymer
100	021	Zein, purified

・ここに記されている他にも数千種類のポリマー試料を取り揃えております。 カタログ・資料ご希望およびお問い合わせ等は下記へご連絡下さい。



株式会社 ゼネラル サイエンス コーポレーション

〒170-0005 東京都豊島区南大塚3丁目11番地8号 TEL.03-5927-8356 (代) FAX.03-5927-8357

ホームページアドレス <http://www.shibayama.co.jp> e-mail アドレス gsc@shibayama.co.jp

YASUI KIKAI

SINCE 1953

再現性、精度、信頼性。
36 年以上の実績と公定法と学術論文。



立体8の字®

商標登録第 6576850 号

秒速粉碎機

マルチビーズショツカー®

Multi-beads Shocker®



MB3000シリーズ

☑ 卓上型・省スペース ☒ 極静音設計 40dB 以下

製造発売元

安井器械株式会社

本社・工場 〒534-0027 大阪市都島区中野町2-2-8

TEL.06-4801-4831

FAX.06-6353-0217

E-mail:s@yasuikikai.co.jp

<https://www.yasuikikai.co.jp>

©2025 Yasui Kikai Corporation, all rights reserved.

251007

専門分野を越えた交流



井 倉 則 之

私の専門は食品工学である。主に食品の美味しさを向上・維持させるための加工技術について研究している。助手になってしばらくは大学院生時代に取り組んでいた食品加工中のレオロジー特性と食品成分の変化について研究を行っていた。しかし、1999年に准教授として下田満哉先生が着任されてから、私の研究手法は大きく広がることとなった。それまでは食品に関する学会だけに所属して、自分の研究に関連する発表にしか興味を示さなかったのが、かなり偏った研究者だったと思う。しかし、下田先生は香りに関する研究の第一人者でありながら、香り成分などの抽出への応用が期待されていた超臨界（あるいは亜臨界）二酸化炭素処理を食品の殺菌へと広げるなど、応用性の高い研究を展開されていた。その影響を受けて私も食品加工だけでなく、広範な領域を知ることの大切さを学んでいった。今考えると当然のことではあったのだが、食品加工についても同様で、ただ効率的な加工をすればよいのではなく、食品の美味しさはもちろんのこと、安全性、機能性など多くの視点が求められることから、広範な視点で研究を行う必要性があったのである。

下田先生は九州支部主催の分析化学講習会ではガスクロマトグラフィーの講師を担当されておられた。私も携わることとなり、そのことがきっかけで日本分析化学会に入会することになった。本誌の読者にとっては当然のことだと思うが、分析化学は非常に多くの研究分野を含んでおり、私が所属している農学系はもちろんのこと、理学系、工学系、医歯薬学系など広い分野の先生が本学会に所属している。この分析化学講習会を足掛かりに、私も専門分野を越えた多くの先生と知り合い、異なる分野のお話を聞く機会が増えた。その結果、広い視点から研究に取り組むことができるようになったのではないかと考えている。

2026年5月には九州支部の担当で分析化学討論会が行われる。佐賀大学の高椋利幸先生を実行委員長として、理学系、工学系、医歯薬学系、農学系の教員が準備を進めている。会場は福岡県久留米市の久留米シティプラザという立派な施設を借りて行う。久留米は新幹線も停車するなど非常に交通の便の良い土地である。また、久留米はとんこつラーメンの発祥の地ともいわれており、さらに人口に対する焼き鳥屋の数も多く、美味しいお店が多い。是非、久留米に集っていただき、熱い討論を交わしてほしい。

〔IGURA Noriyuki, 九州大学, 九州支部長〕

超純水を使った分析で気を付けること

高橋 あかね

1 分析用の水

分析現場では、試薬調製、器具洗浄、ブランク水、希釈水、HPLCの移動相などで純水や超純水が使われる。日本国内で純水や超純水を製造する時は、水道水や井水が原水となる。これら原水は透明色で目視による水質の識別はできないが、無機イオン類、金属水酸化物、有機物、微粒子、微生物、溶解ガスなど多くの溶解物質が含まれており、それらの物質は「不純物」と呼ばれている。そしてこの溶解物質＝不純物を除去しなければ、純水や超純水は製造できない。

純水、超純水を製造する際、原水である水道水中の溶解物質＝不純物の指標となる基準値は定められており、水道法第4条の規定に基づき「水質基準に関する省令」で規定する水質基準に適合する必要がある。

日本国内で使用される規格の中で、分析用水としてよく使用されているのが「JIS K0557 用水・排水の試験に用いる水」と「日本薬局方の水」である。

「JIS K0557 用水・排水の試験に用いる水」は、表1で示すようにA1からA4に分類され、最も高いグレードがA4グレード、超純水相当グレードである。但し、こ

れは代表的な項目、質を規定したものであり、試験目的及び方法によって項目の選択または追加を行う。

「日本薬局方の水」では、純水や超純水という言葉は使用せず、常水や精製水という言葉を使用する。

日本薬局方の第五改正（JP5）時までは「蒸留水」が主流であったが製法規定はなく、1951年の第六改正（JP6）時に蒸留水は蒸留によるものと製法が規定された。

1961年の第七改正（JP7）では、「蒸留水」が「精製水」という記述に替わるとともに、この精製水は、蒸留またはイオン交換樹脂を通して精製すると製法が規定され、併せてイオン交換樹脂を通すために、通常オルガノ式モノベット型製造装置などを用いる、と記述された。

精製水という記述から50年後の2011年の第十六改正（JP16）では、医薬品各条「精製水」の改正に伴い、試験室で製造され、試験の目的に適った水であることが確認された水であれば使えるような規定とする方向で検討が進められ、通則20で、医薬品等の試験に用いる水は「精製水」から「試験を行うのに適した水」という記述に変更された（試験用のみの変更）。

なお、製薬用の精製水および注射用水の純度試験方法

表1 種別及び質

項 目 ¹⁾	種 別 及 び 質			
	A1	A2	A3	A4
電気伝導率 mS/m (25℃)	0.5 以下	0.1 ²⁾³⁾ 以下	0.1 ²⁾ 以下	0.1 ²⁾ 以下
有機体炭素 (TOC) mgC/L	1 以下	0.5 以下	0.2 以下	0.05 以下
亜鉛 µgZn/L	0.5 以下	0.5 以下	0.1 以下	0.1 以下
シリカ µgSiO ₂ /L	—	50 以下	5.0 以下	2.5 以下
塩化物イオン µgCl ⁻ /L	10 以下	2 以下	1 以下	1 以下
硫酸イオン µgSO ₄ ²⁻ /L	10 以下	2 以下	1 以下	1 以下

注 1) 試験方法によっては、項目を選択してもよい。また、試験方法で個別に使用する水の規定がある場合は、それによる；
2) 水精製装置の出口水を、電気伝導率計の検出部に直接導入して測定したときの値；3) 最終工程のイオン交換装置の出口に精密ろ過器などのろ過器を直接接続し、出口水を電気伝導率計の検出部に直接導入した場合には、0.01 mS/m (25℃) 以下とする。

では、それまでの過マンガン酸カリウム還元性物質の指標から TOC（全有機体炭素）に変更された。

2025 年現在は、第十八改正（JP18）が公示されており、第十九改正（JP19）の施行時期は令和 8 年（2026 年）4 月が目標となっている。

1.1 溶解物質の処理技術

原水中に含まれる溶解物質は、各々に適した技術により除去を行う。そのため、単一の技術を用いて水中の不純物除去を行うこともあるが、多くは複数の技術を組み合わせることで水中の不純物除去を行い、純水、超純水を製造する。次に水中の不純物除去を行うための処理技術と役割を紹介する。

1.1.1 活性炭

有機物、残留塩素等を除去する目的で使用する。

残留塩素は、水道水中に残る酸化力を有する塩素で殺菌や消毒の効果がある。

1.1.2 膜

水中のイオン類、有機物など溶解成分や微粒子、粗粒子など懸濁成分を物理的な過程で除去する。関係性を図 1 に示す。

・MF 膜（Microfiltration Membrane）

イオン類、有機物など溶解成分は透過し、濁質、微粒子など懸濁成分を除去する。

・UF 膜（Ultrafiltration Membrane）

分子量 1000 から 300000 程度の高分子量物質が除去対象で、水、イオン、低分子物質は透過し、高分子、ウイルス、パイロジェンを除去する。

・RO 膜（Reverse Osmosis Membrane）

濃度差のある水溶液の水のみを通す膜で起こる浸透現象を利用した処理方法。一般に濃度差があると、低濃度側から高濃度側へ膜を通過して水分子が移動する。逆に高濃度側に高圧力を掛けると低濃度側へ水分子を押し出

すができる。これを逆浸透（Reverse Osmosis, RO）と呼ぶが、この原理を利用して純度の高い水を作り出すことができる。イオン類、有機物など溶解成分や、微粒子など懸濁成分など、どの不純物も満遍なく除去する。

1.1.3 イオン交換

原水中に存在する陽イオン（ Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等）をそれぞれ官能基の H^+ 、 OH^- に交換する。 H^+ に、陰イオン（ Cl^- 、 HCO_3^- 等）を OH^- に交換し H_2O を作る処理方法。

・陽イオン交換樹脂

スルホン基やカルボキシル基などを官能基として持つ樹脂で、水溶液中の陽イオン（ Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} など）と官能基の H^+ を交換する。

・陰イオン交換樹脂

アンモニウム基などを官能基として持つ樹脂で、水溶液中の陰イオン（ Cl^- 、 Br^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- など）と官能基の OH^- を交換する。

1.1.4 UV

細菌やウイルス等が持っている核酸に紫外線を照射し菌を殺す。

・254 nm：殺菌

・185 nm：酸化による有機物除去

有機物を酸化分解し TOC を低減する。

2 純水・超純水

2.1 純水とは

蒸留水、イオン交換水、RO 水、精製水と、製法により除去の特徴はあるが水中の不純物が除去されており、以前はそれらの製法を用いて呼んでいたが、現在は純水と呼ぶのが一般的である。図 2 はイメージ図だが、超純水に比べると純水の範囲は広く、純水と超純水の間には、決められた境界値はなく、その間が高純水と呼ばれたりする。

分類	成分	溶解成分			懸濁成分		
	領域	イオン	分子	高分子	微粒子	粗粒子	
粒径 (μm)		0.001	0.01	0.1	1	10	100 1000
除去対象物		イオン	ウイルス		大腸菌		
		溶解塩類			細菌		
		THM ●	THM前駆物質 ●		クリプトスポリジウム		
					藻類・原生動物	シルト	
				粘土		砂粒子	
分離法					精密ろ過 (MF)		
					超ろ過 (UF)		逆洗
					逆浸透 (RO)		ろ過

図 1 膜処理 物質の大きさと分離法

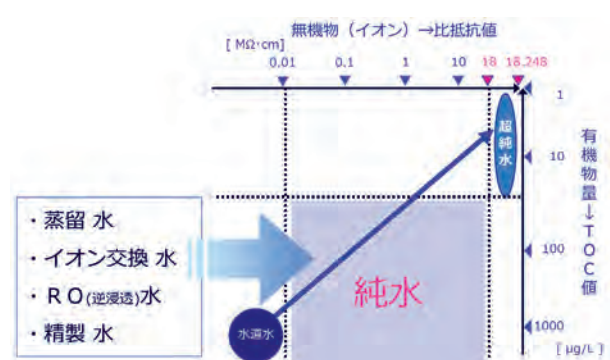


図 2 純水・超純水の水質

2.2 超純水とは

以前の超純水の主な指標は、無機物（イオン）の量であったが、日本国内では1980年代前半には有機物（TOC）の量も主な指標として加わっている。そのため多くの超純水製造装置は、比抵抗値とTOC値がモニターできるようになっている。

超純水は不純物を極限まで除去した水であるが、純水、超純水と水の純度が高くなるほど容器の成分や気体など、接触する物質を溶かし込んでいく性質がある。このような状態の水を「ハングリーウォーター」と呼んでいる。そのため超純水と触れる容器は可能な限り溶出の少ない材質の容器を使用することを推奨する。

また、超純水は採水後の扱い方次第で水質が急激に悪化するため、精製したばかりの超純水は時間を置かず使用する。特に分析用の超純水の多くはヒトが採水するため、使用するまでに「汚染されやすい環境」にある。

2.3 純水と超純水の関係

水の純度を示す尺度として純水は導電率（電気伝導率）、超純水は比抵抗で表すことが多い。導電率と比抵抗は逆数の関係にあり、1を境に、図3で示すように導電率は値が大きくなるほど水質が悪く、小さくなるほど水質が良い。逆に比抵抗は値が大きくなるほど水質が良く、小さくなるほど水質が悪い。

超純水はイオンが非常に少ないため、導電率では値が小さくなり過ぎるので比抵抗が、純水では逆に比抵抗の値が超純水ほど大きくないので導電率が使われている。

単位と読み方は次の通りである。

■導電率 σ ：電気の流れやすさ

$\mu\text{S}/\text{cm}$

マイクロジーメンス パーセンチメートル

■比抵抗 ρ ：電気の流れにくさ

$\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$

メガオーム センチメートル

または

メガオーム センチメートル

また、導電率が比抵抗のどちらかの値がわかれば、次の計算式で割り出せる関係にある。

$$\sigma = 1/\rho \quad 0.055 \mu\text{S}/\text{cm} = 18 \text{M}\Omega\cdot\text{cm}$$

シグマ ロー 導電率 比抵抗

2.4 微量な濃度を表す単位（参考）

微量な濃度の単位を次にいくつか挙げる中、ラボ用で超純水中の不純物量としてよく使われる単位は $\mu\text{g}/\text{L}$ (ppb) と ng/L (ppt) である。

10 g/L (1 %)

1 g/L (1 ‰)

1 mg/L (1 ppm) 1 g/1 m³

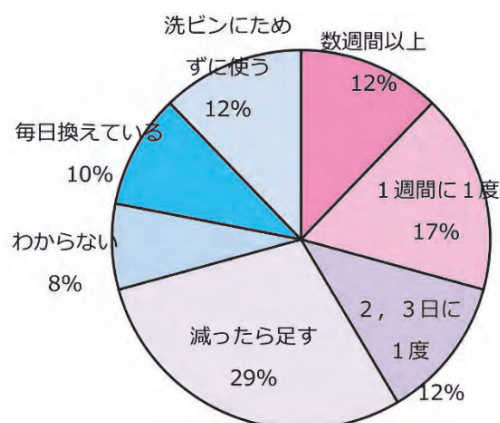
1 $\mu\text{g}/\text{L}$ (1 ppb) 1 g/1000 m³

1 ng/L (1 ppt) 1 g/1000000 m³

3 超純水の汚染事例

3.1 洗ビンの水の交換頻度

図4は、日本生化学会と日本環境測定分析協会の付設展示で取った洗ビンの中の超純水交換頻度のアンケート結果である（41人回答）。一番多かった回答が「減ったら足す」だったが、洗ビンの中の超純水を廃棄せずに継ぎ足すことで汚れが溜まり、どれだけ汚染されているかわからない。「洗ビンに貯めずに使う」「毎日換えている」という回答がある一方で、「数週間以上」や「カビが生えてしまった」という回答もあった。洗ビンの中の貯め水は、常に新鮮な超純水に入れ替えることを心掛けたい。



日本生化学会、日本環境測定分析協会展示会場でアンケート実施：n=41

図4 洗ビンの水 交換頻度

3.2 洗ビンに貯留した水の使用が HPLC に与える影響

図5は、クロマトグラムを重ねているが、試料が一番上がガラス瓶に2日間封入した超純水、二番目が分析室で2日間使用した洗ビン内の超純水、三番目が6種のフタル酸エステル類を20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 混合した標準液を準備し LC-MS で分析した。洗ビンの超純水は、保持時間18分を過ぎたあたりで、大きなピークが見られた。

	比抵抗 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ (at 25°C)	導電率 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (at 25°C)
きれいな水の指標	18.24	0.0548
	18	0.0555
	15	0.0666
	10	0.1
	1	1
	0.1	10
	0.025	40
	0.0063	158.73
	0.0032	312.5
		水道水

図3 純水と超純水の関係

確認したところ、di-n-octyl phthalate であることが分かった。この洗ビンに製造する工程でフタル酸エステル類は使われていなかったことから、このピークは洗ビンを長時間繰り返し使うことにより、実験室環境の有機物が洗ビンに混入したと考えられる。洗ビンに長時間放置した超純水は使用せず、新鮮な超純水を使用した方がよい。

3・3 超純水の採取後の時間経過による影響

図6は、採水直後の超純水と、4日後、7日後、9日後と汲み置きした超純水を比較した結果である。採水直後の超純水と4日間汲み置いた超純水では明らかにクロマトグラムに違いがあり、このピークが何か明確でなければ、汚染によって正体不明のピークが出てしまう。

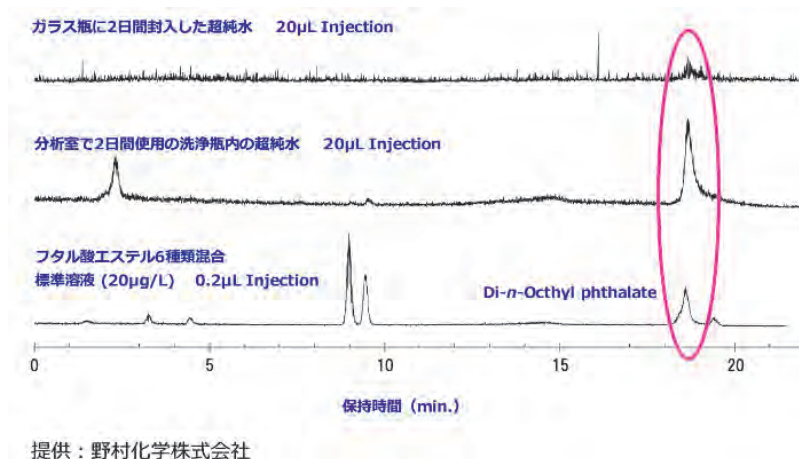


図5 環境から汚染する超純水の影響

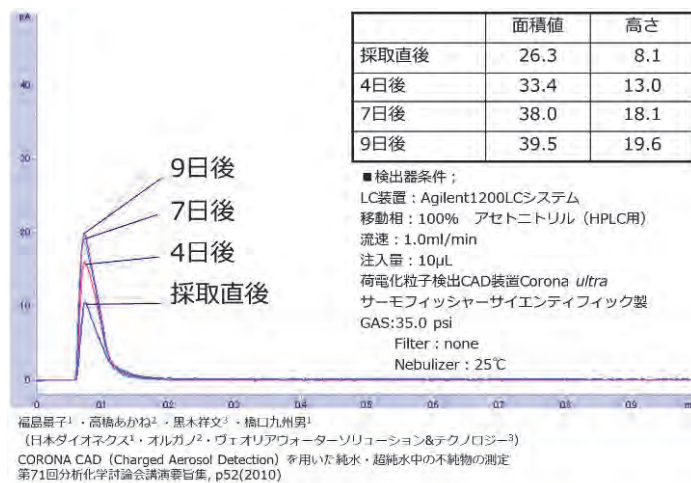


図6 超純水の採取後の時間経過による影響

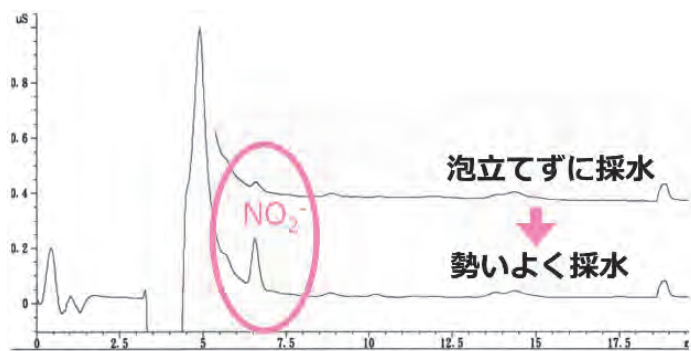


図7 採水操作による汚染

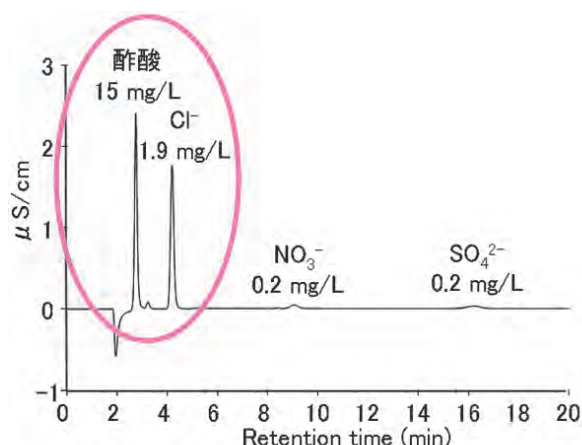
4 超純水採水時の汚染事例

4.1 採水操作による汚染

図7はクロマトグラムを重ねているが、超純水製造装置の採水口からメスシリンダーやビーカーなどの容器に、そっと伝わらせながら超純水を泡立てずに採水した場合と、容器の水面に対して垂直に勢いよく泡立てて採水した場合の違いである。勢いよく泡立てて採水した場合に NO_2^- が検出されており、周囲の気体を巻き込んで採水したことによる室内環境中からの汚染ではないかと示唆された。

4.2 ヒト由来

図8は、超純水の採水時に手袋を着用しないまま指が直接超純水に触れてしまったが、そのまま止めずに採水した場合のクロマトグラムである。ヒトの汗の成分となる酢酸などが検出されており、このように触れてしまった場合、超純水は採水し直すことを推奨する。



提供：日本ダイオネクス株式会社（現・サキモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）

図8 ヒト由来の汚染

5 最終フィルター由来の汚染

図9は、HPLC用の移動相として10数種の超純水相当を比較したデータから3種を抜粋した。超純水製造装置の採水口の先端に最終フィルターが装着されている場合、フィルターの初期洗浄が足りないと、フィルター由来のコンタミネーションが起こる事例である。

図10は、同様にHPLC用の移動相として3種の超純水相当を比較したデータである。左からハイエンド機種から採水した超純水、市販のLC-MS用精製水、右は一般的な機種から採水した超純水で、何もインジェクションをしていないのに右の超純水だけピークが検出された。当初は前日に使用した試料チウラムが残留物として検出されてしまったかもしれないと、キャリアオーバーを疑ったがチウラムのピークではなく不明のままに終了した。ところがこのデータを別の分析研究者に見せたところ、同様のゴーストピーク（ゴーストピーク＝本来試料に含まれない成分なのに現れるピークのこと）が検出され、超純水メーカーに相談をしたところ「そのような事象が出たら最終フィルターを外して超純水を採水し直してみてください」とアドバイスを受け、試してみたらゴーストピークが消えたと言う。

超純水製造装置の採水口の先端に最終フィルターが装着されている場合、フィルター由来のコンタミネーションやフィルターに貯まった水の汚染を考慮し、新品の最終フィルターの場合は、取扱説明書に洗浄時間の記載があれば記載通りに洗浄し、使用中の最終フィルターの場合は、超純水が貯まっているのが目視で見えるようであれば、貯まり水を十分に廃棄してから超純水を採水することを推奨する。

6 ボトル水使用の注意点

LC-MS用ボトル精製水は、超純水の代替として移動

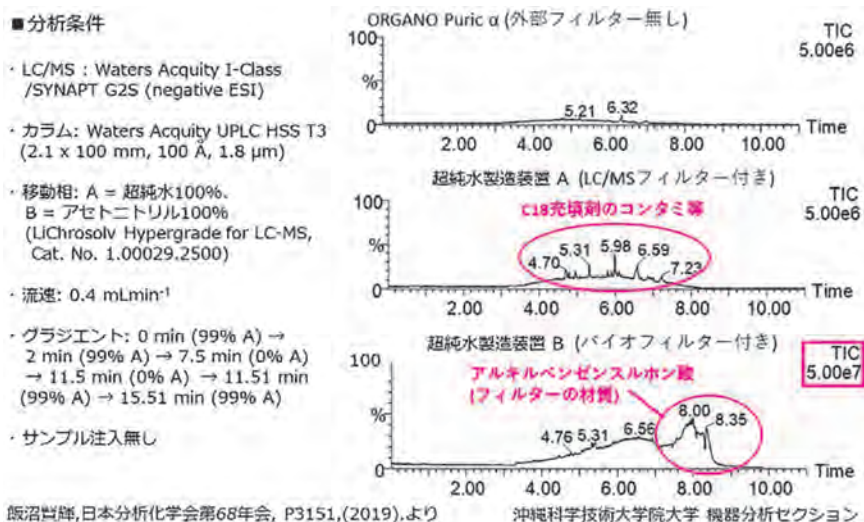
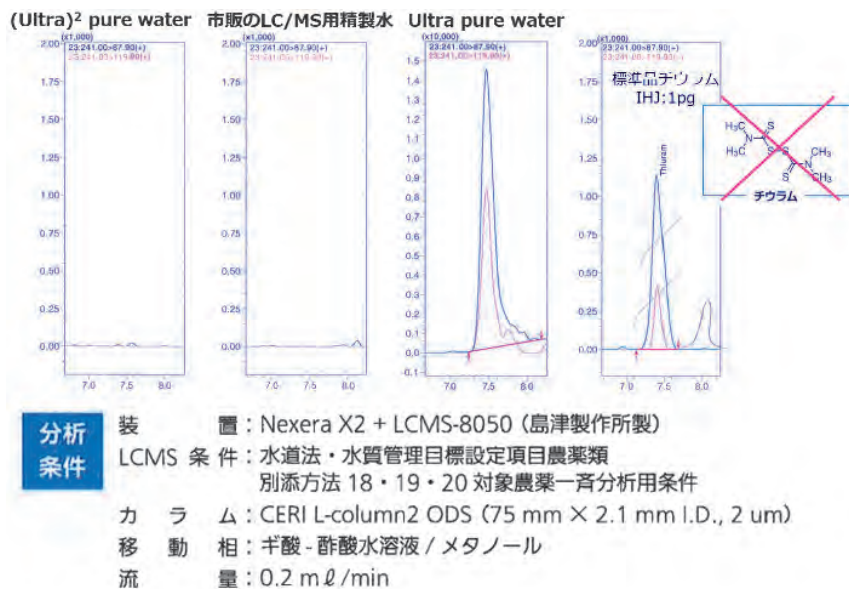


図9 LC-MS分析に最適な超純水の検討



提供：株式会社 島津製作所

図 10 最終フィルターの汚染

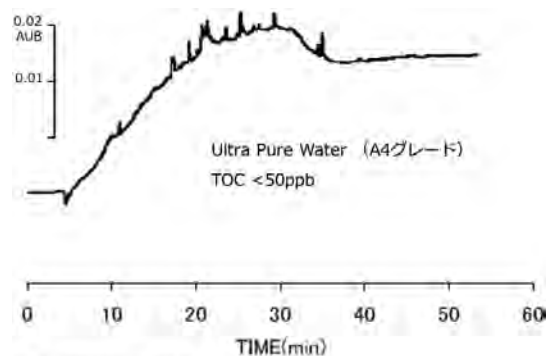


図 11 古い純水はゴーストピークのもと

相などに使われることがある。図 10 に示す最終フィルターの汚染事例では、市販の LC-MS 用ボトル精製水のきれいなデータを紹介したが、開封してすぐにボトル精製水を使用した場合は問題なく使えているが、一度使用してキャップを閉め、次に開封する場合は貯め水となっている。図 11 に示すように既に 1987 年には「古い純水はゴーストピークのもと。捨ててしまいましょう」と注意喚起が行われている通り、開封後は速やかに使い切ってしまうか、もしくは廃棄することを推奨する。

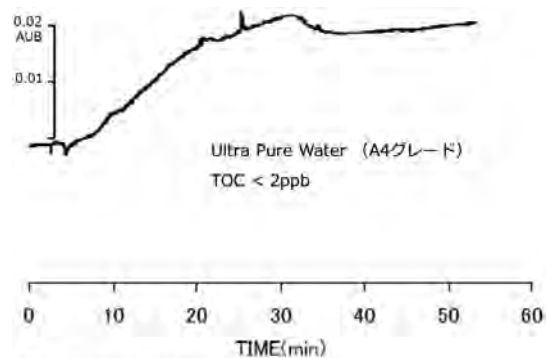
7 超純水中の有機物量が HPLC に与える影響

冒頭に、表 1 で示した「JIS K0557 用水と排水の試験に用いる水」の最もグレードの高い A4 グレード（超純水相当グレード）では、TOC は 0.05 mgC/L (50 ppb) 以下と定められている。単位を読み替えると 50 ppb 以



提供：野村化学株式会社

(a) TOC が 50 ppb をわずかに下回った超純水



提供：野村化学株式会社

(b) TOC が 2 ppb 未満の超純水

図 12 超純水中の有機物量が HPLC に与える影響

下と定められている。それでは超純水中の TOC 50 ppb 以下の水は HPLC の移動相に用いた場合、適切かどうかを確認した。図 12 a に示すクロマトグラムは TOC 50 ppb をわずかに下回った超純水、図 12 b に示すクロマトグラムは TOC 2 ppb 未満の超純水を、それぞれ超

純水とアセトニトリルでグラジエントを掛けて検出波長 210 nm で測定したクロマトグラムである。何もインジェクションをしていないのに TOC 50 ppb をわずかに下回った超純水では、TOC が高いため多くのゴーストピークが検出されていることがわかる。このような点から、特に微量分析を行う時は、超純水中の TOC は JIS 規格の 50 ppb より可能な限り低い値が望ましい。

8 ま と め

水は微粒子や色のある溶質を含まない限り無色透明なので、超純水か通常の水なのか一見では判別できず、ましてや汲み置いた超純水かどうかは見た目には分からない。そのため、洗ビンに「超純水」と記載があれば、その水が数日経過していても使用してしまいがちである。しかしながら「超純水は貯めて使用しない」のが基本である。

汚染事例では「貯めない」「周囲の気体を巻き込んで採水しない」「最終フィルターは要注意」「ヒトが誤って直接触れた超純水は使用しない」を紹介した。また超純水は「ハングリーウォーター」であるため、超純水と触れる容器は可能な限り溶出の少ない材質の容器を使用することを推奨する。

超純水を使用する場合は消耗品を延命させず、必要経費として予算を確保し、定期的に交換することがより精度の高い実験を遂行する上で最も重要である。

文 献

- 1) 丸山正武： *Organo Hi-Lites*, Vol. 2 No. 2, p. 2 (1953).
- 2) 丸山正武： *Organo Hi-Lites*, Vol. 6 No. 2, p. 18 (1957).
- 3) 丸山正武： *Organo Hi-Lites*, Vol. 8 No. 3, pp. 1-21 (1959).
- 4) オルガノ社史編集委員会：“オルガノ 35 年の歩み”，pp. 21-38 (1981)，(馬場静山堂)。
- 5) 坂本勉：“分析化学に用いる試薬としての水”，(オルガノ株式会社)，(1984)。
- 6) 渡邊秀夫：“ナベさんの液クロ便利帖”，No. 13，(東ソー株式会社)，(1985)。

- 7) オルガノ株式会社 超純水編集委員会：“超純水”，(1991)，(ジェイ・オー・クリエイト)。
- 8) オルガノ社史編集・編集委員会：“地球の生命・水 [オルガノ 50 年の歩み]”，pp. 3-21 (1997)，(ダイヤモンド・グラフィック)。
- 9) ローム・アンド・ハース・ジャパン：“イオン交換樹脂読本”，p. 27 (1997)，(双葉タイプ)。
- 10) 日本ミリポア株式会社：“超純水超入門”，pp. 8-20 (2003)。
- 11) 梅香明子：ぶんせき (*Bunseki*)，**2004**，403。
- 12) 中村洋 監修：“液クロ実験 How to マニュアル”，pp. 60-61 (2007)。
- 13) 山中弘次：分析化学 (*Bunseki Kagaku*) **59**，265 (2010)。
- 14) 福島景子，高橋あかね，黒木祥文，橋口九州男：第 71 回分析化学討論会講演要旨集，p. 52 (2010)。
- 15) 鳥山由紀子：ぶんせき (*Bunseki*)，**2010**，442。
- 16) 高久雄一，石塚香織，西村寛之，高橋あかね：日本分析化学会第 60 年会講演要旨集，p. 272 (2011)。
- 17) 飯沼賢輝：日本分析化学会第 68 年会講演要旨集，p. 3151 (2019)。
- 18) 中村洋 監修：液体クロマトグラフィー研究懇談会 創立 45 周年記念誌『日本における HPLC，LC/MS 発展の歴史』，pp. 213-220 (2019)。
- 19) 日本工業規格：JIS K0557 1998，用水・排水の試験に用いる水 (<https://kikakurui.com/>)，(accessed 2024.10.29)。
- 20) 厚生労働省：“日本薬局方”ホームページ (<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000066530.html>)，(accessed 2024.10.29)。



高橋 あかね (TAKAHASHI Akane)

オルガノ株式会社 本社 機能商品本部 事業企画部 (〒136-8631 東京都江東区新砂 1-2-8)。液体クロマトグラフィー分析士 初段。《現在の研究テーマ》次世代のラボ用超純水製造装置：水中の有機フッ素化合物 PFAS 対策；環境水中の医薬品対策；マーケティング—売れる仕組みづくりの構築。《主な著書》液体クロマトグラフィー研究懇談会 創立 45 周年記念誌『日本における HPLC，LC/MS 発展の歴史』。《趣味》テニス，イギリスで暮らすように旅をすること。

E-mail: takaha-a@organo.co.jp

試薬の有害性情報

1 はじめに

大学等の研究開発の現場では、実に多様な試薬が使用されている。しかし、特定の化合物を大量に使用する企業の生産現場とは異なり、少量多品種で1回限りの使用となることも多く、すべての試薬の危険性・有害性を使用者が事前に把握しているとは限らない。本稿では試薬（特に危険物、毒物、劇物）の有害性・危険性を確認するにはどのようなことに気をつけるべきか、試薬に関する国内法や国際的な取り決めを中心に解説する。

2 国内法規に基づく試薬の有害性情報表示

2.1 消防法に基づく表示

消防法では火災を防ぐため、その原因となる物質と建築物の防火対策・消火設備について規定を設けている。火災の原因となる物質を「危険物」と定め、取り扱いについて量的制限（指定数量という）を設けている。試薬の中には危険物が多く存在する。試薬が危険物に該当する場合、そのラベルには必ずその旨の標記することが義務づけられており、指定数量を超えときは危険物倉庫等定められた場所で保管・貯蔵する。危険物は消防法で六つの類に分類されている（表1）が、これは地震等で試薬容器が破損し、混触反応により火災が発生することを防ぐためであり、一部の例外を除き類ごとに分けて保管する。特に、危険物第3類は火災時に消火活動の阻害原因となるため、実験室には保管しないことが望ましい。

六つの類の中で、最も多く使用されている試薬は第4類の引火性液体であろう。一般的な有機溶媒は大抵ここに含まれる。第4類の中でも引火点・発火点等により細かく分類がなされ、各分類により指定数量が異なる（表2）。指定数量は量的制限の基準値であり、保有量を指定数量で割った値（倍数）が1以上になるとその取り扱いには国家資格（危険物取扱者）を持つ者の立会いが必要となる。したがって在庫管理を徹底して保有量をできるだけ減らすことが重要となる。なお、一定数量以上の危険物を扱う施設には危険物取扱者の中から選任された危険物保安監督者をおくことが義務づけられている。

表1 危険物の類別と代表的な化合物

類別	名称	化合物の例
第1類	酸化性固体	金属硝酸塩、過塩素酸塩
第2類	可燃性固体	硫黄、金属粉、マグネシウム
第3類	自然発火性物質 禁水性物質	金属ナトリウム、カリウム、アルキルアルミニウム
第4類	引火性液体	有機溶媒（表2参照）
第5類	自己反応性物質	ニトロ化合物、アゾ化合物
第6類	酸化性液体	硝酸、過酸化水素、過塩素酸

2.2 毒劇法に基づく表示

毒物及び劇物取締法（以下「毒劇法」）は、人体への急性毒性をもたらす化合物についてその管理・取扱いを規制する法律である。なお、医薬品は医薬品医療機器等法により規制されており、本稿では対象外とする。

対象化合物はLD₅₀値（ラット体重1kgあたりの半数致死量）等により、毒性の高いものから「特定毒物」「毒物」「劇物」の3種に分類される。特定毒物はモノフルオロ酢酸等約10種、毒物は青酸カリ、亜ヒ酸、水銀化合物など約150種、劇物は塩酸、水酸化ナトリウム、メタノール等約300種が指定されている。

毒物は赤地に白抜き文字で「医薬用外毒物」、劇物は白地に赤の文字で「医薬用外劇物」と標記すると定められている（図1）。したがって試薬のラベルを見れば毒物・劇物かそれ以外を判定するのは容易である。

一方、毒劇法の下で対象化合物を指定する政令である「毒物及び劇物指定令」は改正されることがある。例えばアジ化ナトリウムは1999年から¹⁾、水酸化テトラメチルアンモニウムは2013年から、酸化コバルト（Ⅱ）は2020年²⁾から、それぞれ毒物に指定されている。生物学の研究で用いられる2-メルカプトエタノールは2008年に濃度にかかわらず毒物に指定されたが、その後2016年になって含有率10%以下のものは劇物、含有率0.1%以下かつ容器容量20L以下のものは普通

医薬用外毒物

医薬用外劇物

図1 毒物・劇物の表示ラベル

表2 危険物第4類の指定数量

類別	指定数量	化合物の例
特殊引火物	50 L	ジエチルエーテル
第一石油類（非水溶性）	200 L	n-ヘキサン、トルエン、酢酸エチル
第一石油類（水溶性）	400 L	アセトン、アセトニトリル
アルコール類	400 L	メタノール、エタノール
第二石油類（非水溶性）	1000 L	1-ブタノール
第二石油類（水溶性）	2000 L	N,N-ジメチルホルムアミド、酢酸
第三石油類（非水溶性）	2000 L	アニリン、ニトロベンゼン
第三石油類（水溶性）	4000 L	ジメチルスルホキシド
第四石油類	6000 L	シリコンオイル、流動パラフィン
動植物油類	10000 L	亜麻仁油、オリーブ油

物と緩和された³⁾。また劇物を中心に、規制が緩和されて対象外となる化合物もある。古い試薬を用いるときには法改正による取扱法の変更がないかどうか、注意が必要である。

2.3 労働安全衛生法に基づく表示

労働安全衛生法に基づく化合物の法規制化合物として「有機溶剤」および「特定化学物質」が挙げられる。これらは試薬の使用による慢性毒性から労働者を守るために定められた。有機溶剤は第1種から第3種までが、特定化学物質は第1類から第3類が労働安全衛生法施行令により定められている⁴⁾⁵⁾。これらの情報も試薬ラベルおよび後述するSDS（安全データシート）に必ず記載されている。

これらの化合物を定期的に扱う労働者は、健康診断（業務開始前及び半年に1度以上）と教育訓練を受けなくてはならず、また当該作業場は排気設備・保護具の着用などの対策をしたうえで作業環境測定を半年に1度以上実施する必要がある。

3 国際的な取り決めに基づく試薬の表示

3.1 GHS ピクトグラム⁶⁾

GHSとは、「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals）」の略語である。化学品の危険有害性（ハザード）ごと分類基準およびラベルや安全データシートの内容を調和させ、世界的に統一したルールとして提供するというものである。

ハザードの分類は前項の国内法とやや異なる形で世界的に統一されており、その危険性が言語を問わず一目でわかるように統一したピクトグラム（図2）で試薬（化合物）のラベルに記載することが定められている。

3.2 SDS

SDSとはSafety Data Sheet（安全データシート）の略であり、化学物質および化学物質を含む混合物を譲渡・提供する際に、その化学物質の物理化学的性質や危険性・有害性及び取扱いに関する情報を、相手方に提供するための文書である。SDSは、化学物質を製造、輸入する事業者が自主的に作成・配布する場合もあるが、特定の危険または有害な物質（化管法に基づく第1種指定化学物質約515種および第2種指定化学物質約134種）については、提供側が利用者に告知内容をまとめて提供することが義務づけられている。また、ILO（国際労働機関）条約における取り決めやISO（国際標準化機構）での標準化をはじめとする国際的な枠組みが整備されており、多くの国でSDS提供が義務化されている。

SDSに記載する情報には、化学製品中に含まれる化学物質の名称や物理化学的性質のほか、危険性、有害性、ばく露した際の応急措置、取扱方法、保管方法・廃棄方法などが記載される。SDSは試薬購入時に紙またはPDFデータファイルで必ず入手でき、またブラウザを用いる試薬管理システム上でリンクされていることも多い。



図2 代表的なGHSピクトグラム⁶⁾

4 おわりに

本稿では試薬の有害性に係る情報の入手について、主に法規制の観点から述べてきた。試薬ラベルには多くの情報が記載されているので、使用・保管にあたり容器の移し替え・小分けは可能な限り避けるべきである。別容器を用いる場合、その容器にも元の容器のラベルの複製を作成・貼付することが望ましい。また毒劇物の食品容器への移し替えは、法律により禁止されていることにも留意されたい。

大学において事故を防ぐためには、「教員側も知識が不十分のまま学生に使用させてしまうことがあり得る」という前提に基づき、使用者自身が自衛できるような教育・システムを構築することが理想である。試薬の使用前にそのSDSを熟読してもらう習慣を推奨する。

文 献

- 1) 厚生労働省：医薬安全局長通知（医薬発第1138号）“（平成10年12月24日政令第405号による）毒物及び劇物指定令等の一部改正について”，（1998）。
- 2) 厚生労働省：医薬・生活衛生局長通知（薬生発0624第1号）“（令和2年政令第203号による）毒物及び劇物指定令の一部改正について”，（2020）。
- 3) 厚生労働省：医薬・生活衛生局長通知（薬生発0701第1号）“（平成28年政令第255号による）毒物及び劇物指定令の一部改正について”，（2016）。
- 4) 労働安全衛生法施行令の一部を改正する政令（令和5年政令第265号）（有機溶剤：別表第六の2、特定化学物質：別表第3）。
- 5) 有機溶剤中毒予防規則（昭和四十七年労働省令第三十六号）。
- 6) 環境省：“GHS 化学品の分類及び表示に関する世界調和システムについて”パンフレット，（2013年3月改訂）。

〔上智大学理工学部 橋本 剛〕

特集 分析化学の貢献を期待して ～異分野領域の最新研究～

《特集》「分析化学の貢献を期待して～異分野領域の最新研究～」企画にあたって

分析化学は常に研究の最先端とともに発達してきました。新しい化学現象・原理を発見した場合、それを証明するためには必ず測定が必要だからです。しかし近年、分析技術の発達は飽和している（機器の改良は進んでいるがブレークスルーが少ない）ように思えます。これを打破するためには、研究している皆様が広い視野を持ち、新しい境界領域を開拓していくことが必要かと思えます。

そこで今回の特集では「分析化学の貢献を期待して～異分野領域の最新研究～」と題して、分析化学に一見関係がないように見える話題も含め、分析化学の周辺で起こっている事例や測定法・基礎研究について、教育機関・研究機関・企業の方々に至る（会員外の方を含む）多方面からご紹介いただき、最新の研究成果 14 報をご紹介することに致しました。「この技術が新しい分析化学手法の発展に貢献するのでは」あるいは「最新の異分野研究で困っていることに対して分析化学が貢献できるのでは」という観点から特集していますので、これまでの特集号と違って分野が散逸しているように思えるかもしれませんし、全く知らない分野の記事もあるかと思えます。しかし、できるだけ平易に記事を書いたいただきましたので、本誌をご覧になっている皆様におかれましては「この記事は関係無いね!」と読み飛ばさず、特集号全体一通り目を通して頂くことで、少しでも新しい研究や開発のヒントを貰う、あるいはヒントを与えるきっかけとなって下されば誠に幸いです。

執筆者各位におかれましては、ご多忙のところご寄稿頂きまして誠にありがとうございました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

「ぶんせき」編集委員会

特集 分析化学の貢献を期待して～異分野領域の最新研究～

分析化学に向けたハイエントロピー合金	西島 喜明
ゼオライトにおける超秩序構造と高機能化へ向けた制御の検討	伊與木 健太
深共晶溶媒について	岡村 浩之
がん選択的ホウ素中性子捕捉療法を企図した 多重標的型ポリロタキサン	東 大志, 荒瀬 春輝, 伊敷 帆夏, 本山 敬一
組織切片を測定試料とする化学物質の組織内局所分析	輿石 一郎
疾患関連細胞外小胞の分類と解析技術	森田 那奈架, 岡本 葵, 竹内 啓晃
真菌の化学的分類法	佐藤 一朗, 村山 琮明
光免疫療法の基礎と展開	小川 美香子
バイオ材料工学技術による再生腸組織の作製	土戸 優志
NMR を活用した農畜水産物・食品の非破壊・網羅的成分分析	伊藤 研悟
D-アミノ酸が拓く新たな世界	唐川 幸聖
ペプチド吸着制御 LC の開発と創薬への貢献	合田 竜弥
迅速かつ省力的な高病原性鳥インフルエンザ遺伝子検査法の開発	宮澤 光太郎
人工遺伝子・長鎖 DNA の合成と分析が支える遺伝子治療の発展	山田 尚之

分析化学に向けたハイエントロピー合金

西 島 喜 明

1 緒 言

光と貴金属原子表面の自由電子との共鳴現象である、表面プラズモン共鳴は屈折率による光学応答や、表面増強ラマン散乱 (SERS)、表面増強赤外吸収 (SEIRA) による微小分子検出により、分析化学にとって極めて重要な地位を占めるようになってきた。一方でプラズモン共鳴が起こる元素は金、銀、銅、アルミニウム、白金、パラジウムなどいくつかの元素に限られる。これらの原子は豊富な自由電子を有し、かつ電気抵抗が小さいことで効率の良い共鳴が実現できる。強い光増強効果を得るためには、銀やアルミニウムを使うが、銀は空気中の酸素、窒素酸化物、硫黄酸化物などによって容易に酸化され、プラズモン共鳴が消失する。アルミニウムは表面に緻密な酸化膜を形成するために、それ以上酸化が進まずに安定なプラズモン材料が形成できるが、最も電場が強い金属表面は利用できない。化学的な安定性を得るためには金を使うことが好ましい。さらにプラズモン共鳴は金よりも弱い、白金やパラジウムもプラズモン共鳴を示すことが知られており、研究用途に利用されている。さらに、水素吸蔵機能や触媒活性などの有用な機能を有している。一方でこれらの貴金属類は、投機的な目的で取引がされるなどの影響で、価格自体が高い上に、世界情勢によって大きく変化し不安定である。特に近年のウクライナ情勢やイスラエル情勢により、金の市場価格は爆発的に上昇している。金は10年前の2015年と比較するとおよそ2倍の価格になっている。一番価値の低い銅であっても多くの利用がなされており、容易にお金に換えることができるため、銅線やマンホールの蓋の盗難も発生している。このような状況であることから、プラズモニクスの研究にかかる費用は年々高くなっており、少なくとも私にとっては材料を用意すること自体が研究の負担になっている。このような観点から新しい有用なプラズモン共鳴材料を探索することは極めて重要である。我々は新しい材料として合金材料のプラズモン応用を目指して研究を行っている^{1)~7)}。

2 2原子、3原子系の合金材料

プラズモン共鳴にかかわる材料コストの低下と、新たな機能の創出を目指して、研究を開始したが、作製した

金属材料がプラズモン共鳴を示さない場合、あまり有用性が得られない。したがって、既にプラズモン共鳴を示すことがわかっている系で、合金化時に及ぼす影響を明らかにすることがよいと考え、金銀合金系でのプラズモン共鳴を探索した。この研究を開始するに先立ち、金銀合金に関する論文を検索したところ、Elsayedらのグループが化学合成によって合金ナノ微粒子を作製する研究が報告された。それ以外にもいくつかの研究で、化学合成によりナノ微粒子を作製し、その透過スペクトルを計測した結果について報告があることを見つけた。いずれの研究でも、ナノ微粒子のMie散乱の式に基づいて光学特性を評価・解析していたが、誘電率について明確な議論がなされていなかった^{8)~10)}。プラズモニクスの研究において、金属材料の複素誘電率は例えば時間領域差分法 (FDTD法) や有限要素法 (FEM法) による解析でも必須のパラメーターである。これが議論されていない点で、プラズモニクスの研究としては不十分であると考えた。以上の観点から、我々がプラズモニクスの研究を行う際には必ず誘電率を解析し、またFDTD計算によるシミュレーションでプラズモン特性を評価することを必須であると考えて研究を推進している。

ここで、誘電率の取り扱いに関して注意すべき点がある。単一の金、銀、銅といったプラズモン材料の金属の誘電率であっても、文献によって異なる値を示す点である。

図1にそれぞれの金属元素で様々な文献から取得した複素屈折率をグラフ化したものを示す。多くのFDTDソフトなどで採用されているものとして、PalikやJohnson and Christyのデータがある。それらと比較しても他の文献値は異なる値を示す^{11)~17)}。当然のことながら、これらの異なる誘電率を持つデータを使って計算を行うと、異なる結果を示すことになる。これは実験的に決めた誘電率であり、例えば製膜手法がスパッタリングであるか、熱蒸着、EB蒸着であるか、基板加熱の有無、製膜速度など、諸々の製膜条件によって大きく異なる。これは粒界サイズなどの膜質による影響が大きい。例えば粒界サイズが小さく、自由電子の平均自由行程よりも小さな粒界サイズであれば、プラズモン共鳴時に電子が振動している際に粒界によって電子散乱が発生するためである。この電子散乱はドルーデモデル内の緩和定

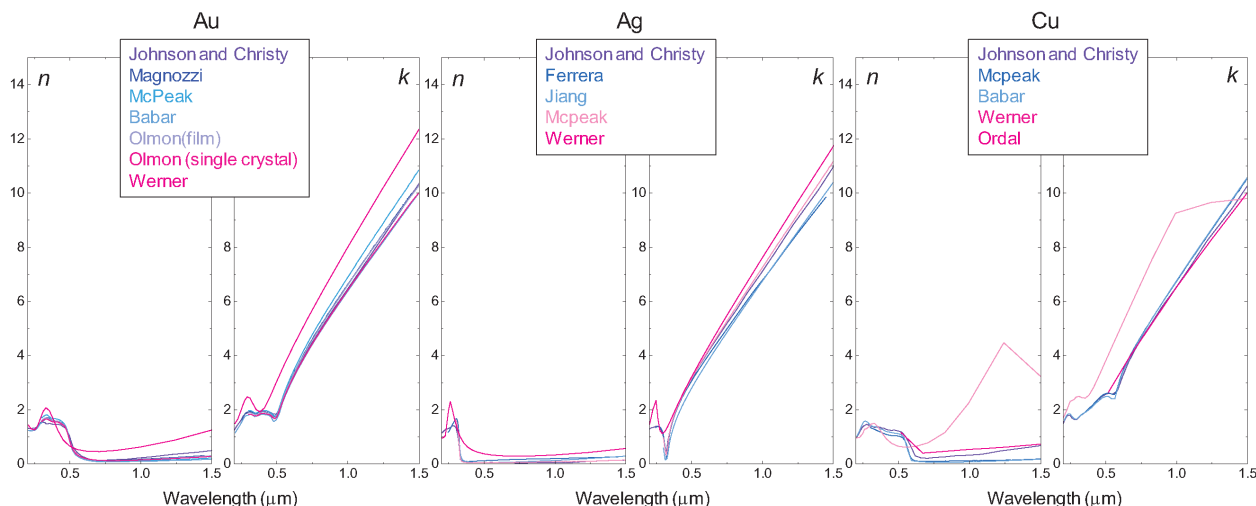


図1 様々な論文から引用した、金銀銅の複素屈折率

数 Γ に大きく影響を与える。 Γ は誘電率の実部・虚部ともに含まれる数字であるが、この値が大きくなることにより、逆数である緩和時間 τ は小さくなる。そのため、プラズモン共鳴が持続する時間は低下する。また、製膜した金属材料に含まれる不純物も無視できない量存在するときには、自由電子密度や電子の相対質量に影響を与え、ドルーデモデルのプラズマ振動数 ω_p にも影響を与える。これらの要因によって各実験結果が示す誘電率が異なってくると推察される。したがって、FDTD などのシミュレーション手法と実験値の一致精度を高めていくことを目指すためには、実際に自分が作製している条件で誘電率を決定することが必須であるといえる。しかし、プラズモン共鳴特性についてある程度の傾向を知るために FDTD 計算を行うのであれば、既存の文献から利用した誘電率でよいといえる。したがって本研究で報告している誘電率についても、筆者らの手法と他の研究グループが報告している手法での結果は異なる結果となっていることもある。例えば金と銀の合金では Leite らや Coviello らが報告しているが、いずれも筆者らの結果とは異なる結果になっている^{18)~22)}。金と銀はあらゆる組成で、均一な FCC 構造を形成することが知られているが、作製方法や評価方法の違いにより、異なる誘電率が報告されている。

また、2 元あるいは 3 元合金の研究をしている際に、問題となったのが合金化をした際に相変化が発生するという点である。金と銀、あるいは銀と銅はどの組成においても均一に混合し面心立方格子構造を形成することが知られている。一方で金と銅に関しては AuCu 、 Au_3Cu 、 AuCu_3 の組成が有名であり、 Au_3Cu および AuCu_3 は面心立方格子、 AuCu は正方晶を取ることが知られている。結晶状態は当然のことながら光学的な性質にも大きな影響を与える。実際金銀銅合金を作製した際には X 線結晶構造解析を行った際に、二つのピークが重なったよう

なブロードな X 線解析結果がみられ、完全に均一な構造となっていないことを推定される結果となった。相分離が発生しているときには、組成の異なる領域で粒界が形成しており、電子散乱が強くなることが想定される。実際に誘電率を計測してドルーデモデルにより解析をしたところ、これらの組成においてダンピングが大きくなることがみられた。すなわち、結晶が混在していることにより電子の散乱が高められてしまい、プラズモン共鳴の持続時間が低下していることをこの結果は示していることになる。この点が 2 元あるいは 3 元合金系の限界であろうという結論に至った。一方で 3 元合金系において、様々な組成で X 線結晶構造解析を計測した結果、例えば金と銅の合金に銀を混ぜ合わせていくと、この二つに分離したピークが互いに近接していく様子が観測された。つまり、銀が金と銅との間のノリのような、界面活性剤のような役割を果たしており、徐々に均一に混和していくが、完全には混和しないことも観測された。この現象は研究を行っていた 2016 年当時では、自身の調査不足により原理を解明することができなかった。しかし、のちにハイエントロピー合金 (HEA) の基礎的な考え方を学んでいくと、当時の研究結果が意味することが理解できるようになってきたのである。

3 HEA の探索とプラズモン応用

上記合金プラズモン材料について、限界を感じていた時に、HEA という概念を知る機会が得られた。HEA とは 2004 年に提案された概念で、定義として 5 種類以上の元素を等原子数比で混合するものである。日本でも 2018 年に京都大学の乾先生を中心とした研究グループにより、新学術領域研究が立ち上げられ積極的に研究がなされてきた新規性の高い材料群である。HEA 化することにより、得られる特徴としては、高い配置エントロピーにより、相状態が熱力学的に安定化されることが期

待できる。一方で、原子サイズの異なる金属同士が結晶を形成するため、原子半径が小さい原子と大きな原子が混在することにより、結晶は歪んだ形状を取ることが考えられる。これにより優れた力学的特性が現れることが報告されている。ここでいうエントロピーとは、配置エントロピーのことを指し、 $S = -R \sum \ln(X)$ によって定義される値である。この定義式に基づいて HEA は $1.5R$ 以上の配置エントロピーを持つものと定義される。5 種類以上の等原子数比にて混合した場合に S の値が最大化することから、5 種類の原子が等原子数比で必要となる。さらに、混合する原子の数を 6 原子、7 原子…と増やしていくと、配置エントロピーはどんどん大きくなっていくので、多くの組成で HEA となりうる。一方で、3~4 元素の場合には、ほとんどの組成で S は $1.5R$ 以下の値になるため、ミドルエントロピー合金、2 元素の場合にはローエントロピー合金と定義される。熱力学的な観点から考えるなら、元素群が混ざる・混ざらないを決めるのは、混合ギブス自由エネルギー変化が負であるときに発生する。配置エントロピーが高い状態というのは、エンタルピー的に不利な変化であっても、自由エネルギー変化を負にすることにより、反応を進める駆動力となりうる。つまり、5 種類以上の元素を混ぜることにより、通常では混合して単一相を形成することができない合金の組み合わせであっても、均一な組成の金属を形成できるものと期待できる。

HEA の化学センサーへの適応を調べてみると、多くが電気化学的なアプローチで研究がなされている。特にサイクリックボルタンメトリー法 (CV 法) が主たる実験手法である。その中で、対象として、グルコースを対象とした検出手法では、R. Gokul らが、FeCoNiMnCr の HEA、R. Ashwini らは NiCrCuCoFe の HEA を使って、検出感度が向上していることを示している。尿酸を対象としたセンサーでは、Z. Qingqing らは $\text{Co}_2\text{CrMnFeNi}$ の HEA、R. Ashwini らは NiFeCrCoCu の HEA でセンサーの感度向上を実現している。アスコルビン酸では D. Zhao らが $10\text{Pt}-10\text{Ti}-80\text{Al}$ 、L. Jin らは PdPt というミドルエントロピー、ローエントロピー合金で、R. Shashanka らは Yttria dispersed Fe-18Cr-13Ni S. Rajendrachar らは $23\text{Fe}-21\text{Cr}-18\text{Ni}-20\text{Ti}-18\text{Mn}$ の HEA で、Yttria dispersed Fe-18Cr-13Ni はギ酸に対しても効果があることが示されている。これらの結果を眺めてみると、Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu という第 4 周期に位置する遷移金属元素が主体であることがわかる。一方で一部の研究は PdPt のローエントロピー合金での研究例はあるが、金、銀をはじめとしたその他の貴金属元素に関して HEA の調査をした研究は以下で述べる北川らの例など少数である。さらに、プラズモニクスなど光科学的な応用をしている研究例は筆者らの研究を除いて報告されていないのが現状である^{23)~32)}。

前述の金銀銅の 3 元合金系はミドルエントロピー合金であり、配置エントロピーが足りないために、相分離状態にある金と銅の混和が完全には起こらなかったと推察される。つまり、この組成に対して新たな金属元素を添加することにより、配置エントロピーを劇的に向上させて、単一組成の合金材料が期待できると着想した。以上の原理に基づいてプラズモン共鳴を示す HEA の構築を目指す。前述のように、プラズモン共鳴を示す金属材料は限りがある。そこで、周期表上で 11 族の銅族元素である金、銀、銅の隣に位置する 10 族元素で、誘電率的にプラズモン共鳴を示しうる、パラジウムと白金を使い、金、銀、銅、白金、パラジウムからなる合金材料を用いることとした。貴金属系の HEA については、京都大学の北川らが世界的に見ても先導的な研究をしてきた³³⁾³⁴⁾。主として、化学的な合成手法で作製され、二酸化炭素の還元触媒を始めとして種々の触媒として利用できることが示されている。この 5 種類の元素はいずれの場合もプラズモン共鳴を示すために、この HEA もプラズモン材料として使えることが大いに期待できるものである。筆者ら研究指針に基づき、この HEA についても、これまでの研究と同様に誘電率を決定することを目指す。そのため、薄膜を形成する必要がある。そこで、あらかじめこの 5 種類で HEA を形成している蒸着材料を購入し、真空蒸着により製膜することを試みた。しかし、ここで問題が発生した。エントロピーの効果により均一に混合しているとはいえ、真空中で加熱をすると銀などの蒸気圧が大きな金属元素から先に蒸発してしまい、熱蒸着装置の温度内で白金はほとんど蒸発しなかった。そこでスパッタリングによる製膜に切り替えて作製を試みた。スパッタリング法であれば、Ar ガスプラズマの物理的な衝突によって原子が飛散していくため、蒸気圧のことなる金属材料からなる HEA であっても、組成を維持したまま製膜できると期待される。X 線結晶構造解析、STEM による元素分析などで作製した薄膜の評価を行ったところ、良好な均一組成の合金が形成されていることを示す結果が得られた。例えば X 線結晶構造解析の結果では、HEA は面心立方格子 (FCC) 構造特有の回折ピークを示した。ピークはローレンツ関数で良好にフィッティングすることができ、均一の組成となっていることが推定される。(111) 面のピーク角度は、それ以外の金属のピークと比較してもおおむね中間的な箇所に位置していることから、合金が形成されていることをうかがわせる結果になった。また、X 線光電子分光法 (XPS 法) では、各元素のピークが元の単体の元素のピークと比較して、いずれのピークもシフトしている結果が得られた。このことから、金属間の結合様式が例えば Au-Au が Au-Ag というように、異原子間の結合に置き換わっていることが推測される結果が得られた。そこで分光エリブソメトリーによって複素誘電率の決定を

試みた。分光エリプソメトリーでは紫外可視（350 nm から 1000 nm）と中赤外（2.5 μm ～20 μm ）の範囲で 2 種類の異なる装置を用い、それぞれ個別に算出した誘電率データを一つの誘電率データとして、ドルーデ・ローレンツモデルにより、解析を行った。データを図に示し表にまとめる。

ドルーデ・ローレンツモデルはドルーデ項とローレンツ項によってあらわされる。ドルーデ項もローレンツ項もいずれも複素数によって表現され、複素誘電率と呼ばれる。誘電率の実部は、電場を印可された際に発生する電束密度の大きさに関するものであり、虚部は電場印可時から電束密度が発生する際に生じる遅延時間である。実部と虚部は互いに独立な関数として存在するのではなく、クラマース・クロニツヒの式によってあらわされる関係式により、互いに結び付けられる。HEA の複素誘電率をみると、ローレンツ項は紫外可視から中赤外の広範囲にわたってブロードな振動が存在している。一方で、振動子数は 1 で十分に良い精度で解析できている。これは、HEA の合金形成によって、多数の金属バンドが形成され、バンド内吸収の吸収体が広帯域にわたって存在していることを示す結果となっている。これは他の単体金属と比べて広い吸収帯である。同時に誘電率の実部は負の値となっている。負の値が大きければ大きいほど、高い反射率を示す。HEA の誘電率の実部は、金銀銅と比較すると絶対値としては小さくなっているが、白金、パラジウムと比較すると絶対値として大きな値となっている。このことから HEA もプラズモン共鳴を十分に示す金属材料となっているといえる。

この誘電率を利用すると、時間領域差分法（FDTD 法）や有限要素法（FEM 法）による電磁界シミュレーショ

ンなどによってナノ構造体の光学特性を評価することができる。すなわち、事前に新しい合金材料のプラズモン特性を評価することが可能となる。二つの装置で測定した結果の隙間の波長帯域は、ドルーデ・ローレンツモデルによる外挿となってしまいが、おおむね光領域ですべ

表 1 HEA の複素誘電率の実験データの抜粋

紫外可視			中赤外		
波長 (nm)	ϵ_1	ϵ_2	波長 (nm)	ϵ_1	ϵ_2
250	-2.69	5.28	1800	-44.25	61.55
300	-3.34	6.76	2000	-50.69	72.13
350	-4.41	8.21	2200	-57.23	83.39
400	-5.7	9.93	2400	-63.9	95.52
450	-6.97	11.86	2600	-70.32	107.87
500	-8.18	13.91	2800	-76.78	121.09
550	-9.36	15.98	3000	-82.94	134.51
600	-10.58	18.04	3200	-88.97	148.54
650	-11.89	20.1	3400	-94.83	163.09
700	-13.29	22.18	3600	-100.37	177.77
750	-14.83	24.39	3800	-105.86	193.36
800	-16.46	26.7	4000	-110.78	208.28
850	-18.16	29.16	4500	-122.54	248.33
900	-19.89	31.72	5000	-132.53	288.43
950	-21.66	34.46	5500	-141.42	330.37
			6000	-148.9	371.67
			7000	-160.83	454.09
			8000	-170	538.69
			9000	-176.85	621.73
			10000	-182.16	704.89

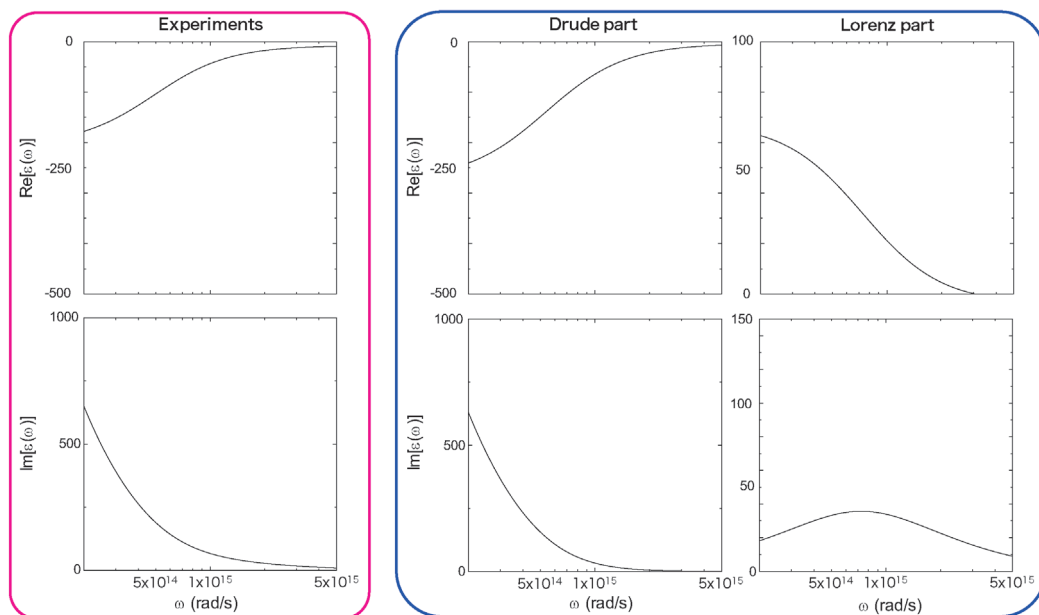


図 2 実験的に求めた HEA の複素誘電率とドルーデ項、ローレンツ項に分割したデータ

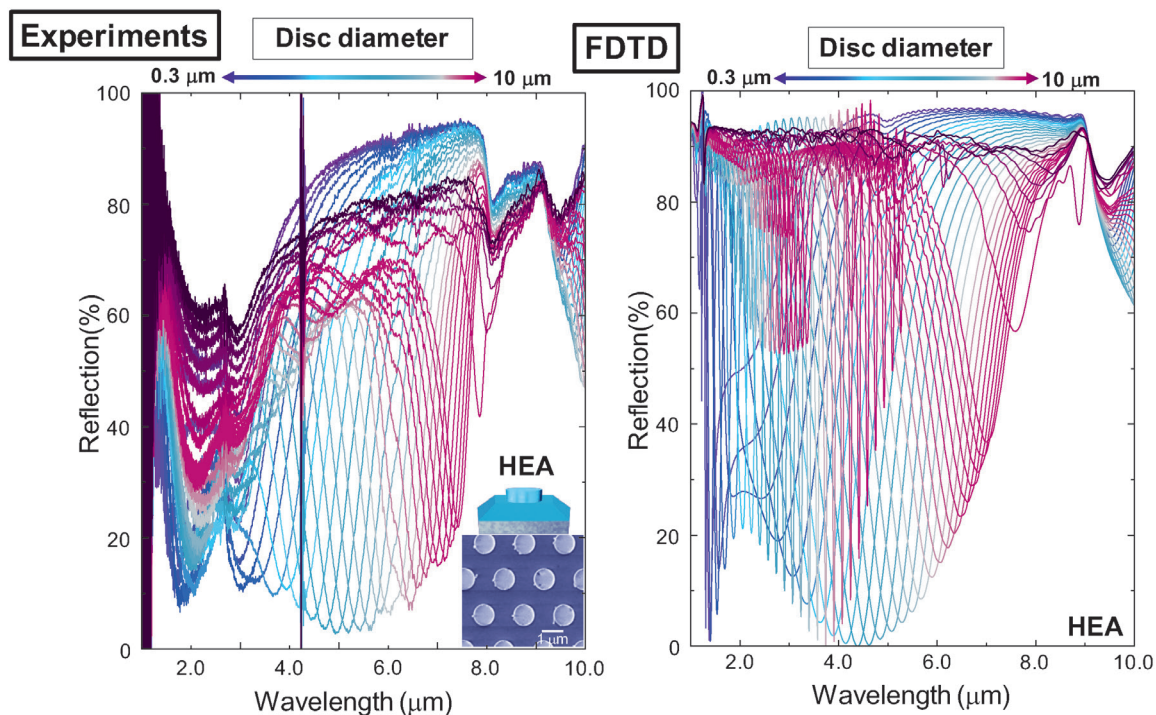


図3 HEAで作製したMIM型メタ表面の光学特性
左は実験値であり、右は実験的に得た誘電率で計算したシミュレーション結果である。

での波長を網羅した結果になっているといえる。例えばナノ微粒子やナノロッドをHEAで形成した場合の光学特性を評価することもできるし、ボウタイ構造のように半導体微細加工で作製した、ナノ構造体の光学特性も評価できる。筆者らの研究室では、非分散赤外線吸収法（non-dispersive infrared absorption, NDIR）を利用した気体分子検出のためのセンサー構築に向けて、有用な赤外光源を構築するために、プラズモニクスを利用した研究を展開している。この中において、金属-誘電体-金属ナノ構造体（metal-insulator-metal nanostructures, MIM）型からなる中赤外プラズモン共鳴材料（プラズモン吸収体、光吸収メタ表面などとも呼ばれる）とその赤外放射制御について検討を行っている。HEAをこの構造体に適応した場合に、興味深い光学特性が得られることがわかったので、次にその光学特性について示す。

MIM型の構造体では下地の金属地板により光透過がなく、一方で上部ナノ構造体と下地の金属地板との間のプラズモン共鳴によって反射率が抑制され、無反射状態を形成する。この無反射状態が光吸収につながっている。Kirchhoffの熱放射の法則により、光吸収と熱放射が等価であるということが示されている。この原理を使うことにより、MIM構造を加熱するとプラズモン共鳴由来の赤外放射が得られる。金や銀のプラズモン材料を使うと、光吸収と光散乱が同時に発生してしまい、完全無反射条件を達成していても完全吸収となっていないために放射効率が最大でも70%程度になってしまうことが、筆者らの研究により示されてきた。この問題を解決

するためには、金属材料の吸収を向上させることが必要である。例えば実験的に金と誘電体層との密着性を向上させるための接着層として利用するCrやTiの厚みを上昇させることで改善できることを見いだしてきた。Crの厚みを通常使用する5 nmから50 nmまで厚くするとほぼ100%に近い放射効率が得られることを明らかにした。ただ、この方法では、加熱中に金とCrが合金化していくために、金の誘電率の変化によりプラズモン共鳴が低くなっていくことが想定される。そのため、長期的な安定性の低下や特性の変化が起こる系では限界があるといえる。したがって、プラズモン共鳴を示す金属自体で吸収効率を向上させることが好ましいと考えられる。そこで、HEAを使うとよいとの考えに至った。HEAの誘電率は上述したように、バンド内吸収の広がりにより、金銀銅よりも大きな吸収が紫外可視から中赤外までの幅広い波長帯域に存在することが示された。また誘電率の実部の負の値は金銀銅よりも小さなものとなっている。すなわちHEAはプラズモン共鳴を示すものの、金属自身の吸収が金よりも大きくなっているのである。そこで、筆者らの研究で得られたHEAの誘電率を市販のFDTDソフトに導入し、下部の地板は金、上部ナノ構造体をHEAからなるプラズモン材料のMIM構造体を設定し、実験的に作製した構造体と同程度のスペクトルを示すことを確認するとともに、FDTD計算により、吸収と散乱断面積を評価した。結果を図に示す。

横軸に吸収断面積と散乱断面積の比をとって反射率をプロットしたところ、純粋な金や銀の場合には、比が

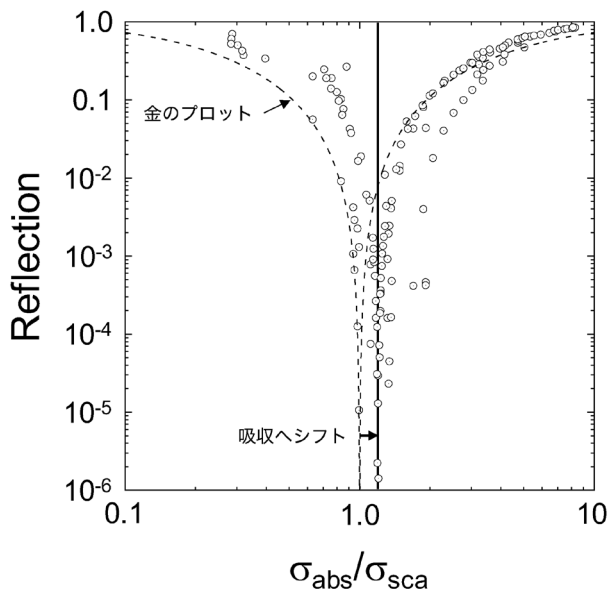


図4 反射率と散乱断面積および吸収断面積の比

1.0 となるところで、反射率が最小になる。つまり、完全に無反射状態になっているときには散乱断面積と吸収断面積が等しくなっていることがわかる。これが完全無反射条件における吸収および放射効率の低下の原因である。しかし HEA で同様の計算を行った場合には吸収側にシフトしていることがわかる。すなわち吸収断面積 > 散乱断面積となっている。これにより、HEA からなる MIM 構造は完全無反射条件において、完全放射を実現できる材料となりうることを示している。実験的な放射特性などは現在検討を行っているところである。

4 まとめと今後の展開

以上、合金プラズモン共鳴材料について、金と銀の合金で研究を開始した当初から HEA に至るまでの、筆者らの研究戦略と成果について、世界的な潮流も併せて示してきた。誘電率という基本的かつ必須のパラメーターを実験的に取得することは、自身の研究を進めるだけでなく、様座生実験研究者、理論研究者などにとっても非常に有益な情報を提供できる。特に近年では第一原理計算の発展により、材料の誘電率を求めることもできるようになってきている。今後本研究の HEA の誘電率の起源などについても、理論的に説明ができるようになってくると期待できる。

文 献

- 1) Y. Nishijima, S. Akiyama : *Opt. Mater. Express*, **2**, 1226 (2012).
- 2) Y. Nishijima, Y. Hashimoto, G. Seniutinas, L. Rosa, S. Juodkazis : *Appl. Phys. A*, **117**, 641 (2014).
- 3) Y. Hashimoto, G. Seniutinas, A. Balčytis, S. Juodkazis, Y. Nishijima : *Sci. Rep.*, **2**, 25010 (2016).
- 4) Y. Nishijima, Y. Hashimoto, A. Balčytis, G. Seniutinas, and S. Juodkazis : *Sens. Mater.*, **29**, 1233 (2017).
- 5) Y. Nishijima, S. Shimizu, K. Kurihara, Y. Hashimoto, H. Takahashi, A. Balčytis, G. Seniutinas, S. Okazaki, J. Juodkazytė, T. Iwasa, T. Taketsugu, Y. Tominaga, and S. Juodkazis : *Opt. Express*, **25**, 24081 (2017).
- 6) M. Takenaka, Y. Hashimoto, T. Iwasa, T. Taketsugu, G. Seniutinas, A. Balčytis, S. Juodkazis, Y. Nishijima : *J. Comp. Chem.*, **40**, 925 (2019).
- 7) Y. Nishijima, T. Sudo, Y. Matsuo, S. Juodkazis : *Engineering*, **49**, 81 (2025).
- 8) M. B. Cortie, A. M. McDonagh : *Chem. Rev.*, **111**, 3713 (2011).
- 9) N. E. Motl, E. E. Annan, I. T. Sines, L. Jensen, R. E. Schaak : *J. Phys. Chem. C*, **114**, 19263 (2010).
- 10) S. Link, Z. L. Wang, M. A. El-Sayed : *J. Phys. Chem. B*, **103**, 3529 (1999).
- 11) P. B. Johnson, R. W. Christy : *Phys. Rev. B*, **6**, 4370 (1972).
- 12) M. Magnozzi, M. Ferrera, L. Mattera, M. Canepa, F. Bisio : *Nanoscale*, **11**, 1140 (2019).
- 13) K. M. McPeak, S. V. Jayanti, S. J. P. Kress, S. Meyer, S. Iotti, A. Rossinelli, D. J. Norris : *ACS Photonics*, **2**, 326 (2015).
- 14) S. Babar, J. H. Weaver : *Appl. Opt.*, **54**, 477 (2015).
- 15) R. L. Olmon, B. Slovick, T. W. Johnson, D. Shelton, S.-H. Oh, G. D. Boreman, M. B. Raschke : *Phys. Rev. B*, **86**, 235147 (2012).
- 16) W. S. M. Werner, K. Glantschnig, C. A. Draxl : *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **38**, 1013 (2009).
- 17) M. Ferrera, M. Magnozzi, F. Bisio, M. Canepa : *Phys. Rev. Mater.*, **3**, 105201 (2019).
- 18) Y. Jiang, S. Pillai, M. A. Green : *Sci. Rep.*, **6**, 30605 (2016).
- 19) C. Gong, M. S. Leite : *ACS Photonics*, **3**, 507 (2016).
- 20) M. Rebello, S. Dias, M. S. Leite : *Acc. Chem. Res.*, **52**, 2881 (2019).
- 21) T. Gong, P. Lyu, K. J. Palm, S. Memarzadeh, J. N. Munday, M. S. Leite : *Adv. Optical Mater.*, **8**, 2001082 (2020).
- 22) V. Coviello, D. Forrer, V. Amendola : *ChemPhysChem*, **23**, e202200136 (2022).
- 23) G. Raj, R. Nandan, P. Gakhad, K. Kumar, A. K. Singh, K. K. Nanda : *Chem. Eng. J.*, **503**, 158041 (2025).
- 24) R. Ashwini, M. K. P. Kumar, M. Y. Rekha, M. S. Santosh, C. Srivastava : *J. Alloys Compd.*, **903**, 163846 (2022).
- 25) Z. Qingqing, L. Ruiyi, Y. Yongqiang, L. Zaijun, Sensors, Actuators : *B. Chemical*, **438**, 137790, (2025).
- 26) R. Ashwini, M. K. Punith Kumar, M. Y. Rekha, M. S. Santosh, C. Srivastava : *Carbon Trends*, **9**, 100216, (2022).
- 27) D. Zhao, G. Yu, K. Tian, C. Xu : *Bioelectron.*, **82**, 119 (2016).
- 28) L. Jin, Z. Zhang, Z. Zhuang, Z. Meng, C. Li, Y. Shen : *RSC Adv.*, **6**, 42008 (2016).
- 29) R. Shashanka, D. Chaira, B. E. K. Swamy : *Int. J. Sci. Eng. Res.*, **6**, 1863 (2015).
- 30) R. Shashanka, D. Chaira, B. E. K. Swamy : *Int. J. Electrochem. Sci.*, **10**, 5586 (2015).
- 31) S. Rajendrachari, V. Adimule, M. Gulen, F. Khosravi, K. K. Somashekharappa : *Materials*, **15**, 7591 (2022).
- 32) R. Shashanka, D. Chaira, B. E. K. Swamy : *Int. J. Sci. Eng. Res.*, **7**, 1275 (2016).
- 33) D. Wu, K. Kusada, T. Yamamoto, T. Toriyama, S. Matsumura, S. Kawaguchi, Y. Kubota, H. Kitagawa : *J. Am. Chem. Soc.*, **142**, 32, 13833 (2020).
- 34) D. Wu, K. Kusada, Y. Nanba, M. Koyama, T. Yamamoto, T. Toriyama, S. Matsumura, O. Seo, I. Gueye, J. Kim, L. Singgapulige, R. Kumara, O. Sakata, S. Kawaguchi, Y. Kubota, H. Kitagawa : *J. Am. Chem. Soc.*, **144**, 8, 3365 (2022).



西島 喜明 (NISHIJIMA Yoshiaki)
横浜国立大学 (〒240-8501 横浜市保土ケ
谷区常盤台 79-5). 北海道大学大学院情
報科学研究科生命人間情報科学専攻修了.
博士 (情報科学).
《現在の研究テーマ》プラズモニクスを駆
使した中赤外センサの構築.
E-mail : nishijima-yoshiaki-sp@ynu.ac.jp



『ぶんせき』再録集 vol. 1 出版のお知らせ

ぶんせき誌の過去記事の有効利用の一環として、『ぶんせき』再録集 vol. 1 が出版されました。2011 年から 2020 年まで、10 年間分の〈ミニファイル〉の記事が詰まっています。

下記 10 章からなり、それぞれ 12 から 14 の話題が集められています。

1. 実験器具に用いられる素材の特徴, 2. 分析がかかわる資格, 3. 顕微鏡と画像データ処理, 4. 最新の web 文献検索データベース, 5. ポータブル型分析装置, 6. 分析化学と材料物性, 7. 分析化学者のための多変量解析入門, 8. 土壌分析, 9. サンプルング, 10. 前処理に必要な器具や装置の正しい使用法。

本書はアマゾンオンデマンド出版サービスを利用して出版した書籍ですので、書店には並びません。アマゾンサイトからのネット注文のみとなりますので、ご注意ください。詳しくは「ぶんせき」誌ホームページをご確認ください。

ゼオライトにおける超秩序構造と高機能化へ向けた制御の検討

伊與木 健太

1 はじめに

ゼオライトは分子サイズのマクロ孔 (< 2 nm) を有する結晶性の無機多孔質材料であり、主としてアルミノケイ酸塩骨格を有する。その特徴を活かして、触媒や吸着材、イオン交換材などとして広く用いられており、分析化学分野においても、種々の充填材や抽出材などとして用いられている。ゼオライトの結晶構造は現在 250 種類以上が知られており、各結晶構造は国際ゼオライト学会により定められているアルファベット 3 文字の構造コード (FAU 型, MFI 型, MOR 型など, 図 1) により表す¹⁾。結晶構造が同一であってもその骨格の原子組成が異なれば特性が変わり、別のゼオライトとして扱われることも多い。この種類の多さや、様々な表記の存在がわかりにくいかもしれないが、異分野の方にもぜひゼオライトを知っていただきたく、本稿を執筆する次第である。

ゼオライトの合成は主に水熱合成法が用いられるが、その生成過程においては非晶質のアルミノケイ酸塩種が生成し、非古典的な結晶化挙動が見られることが知られている。この非晶質中において、order-in-disorder といえる微細構造が存在することが知られているが、その詳細は研究途上である。一方、結晶化したゼオライトにおいても、骨格中のアルミニウムや骨格外カチオンの位

置、複数の結晶構造のインターグロースといった disorder-in-order といえる構造が多くある。筆者が参加していた学術変革領域研究 (A) 「超秩序構造が創造する物性科学」内において、これらを超秩序構造として捉える研究を遂行してきた²⁾。超秩序構造の制御がなされれば、ゼオライトの精密合成、触媒活性や吸着特性の向上などが可能になると期待されるが、超秩序構造を実際に観測することは容易ではなく、分析化学分野の方とぜひ情報交換を行いながら、発展する技術を積極的に適用していきたいと考えている。

2 ゼオライト中の欠陥制御と超耐久/超疎水性ゼオライトの創出

ゼオライトの骨格構造は、Si や Al 原子を始めとする 4 配位原子 (tetrahedral から T 原子と呼ばれることが多い) と、O 原子を始めとする 2 配位原子からなっている。様々な欠陥構造が知られているが、ハイシリカ (アルミニウムが比較的少ない) ゼオライトにおいてよく存在していると考えられるものに、T 原子が欠損し、シラノール基が四つ集まったシラノールネストと呼ばれるものがある (図 2)。このシラノール欠陥の存在により、耐久性や疎水性といった性質が影響を受ける。

始めに紹介する研究では、ハイシリカゼオライトを対象として、シラノール欠陥を極限まで低減させ、耐久性を飛躍的に向上させる手法を開発した。これまでもシラノール欠陥低減の方法としてはシリル化剤の添加や低温スチーミングといった手法がよく知られていたが、細孔容積の低下や欠陥の残存といった課題があった³⁾⁴⁾。これに対して、本研究では、追加のシリル化剤を必要と

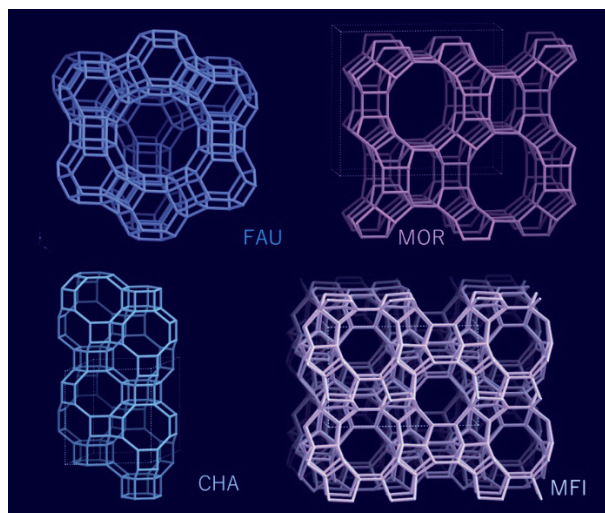


図 1 代表的なゼオライト構造¹⁾

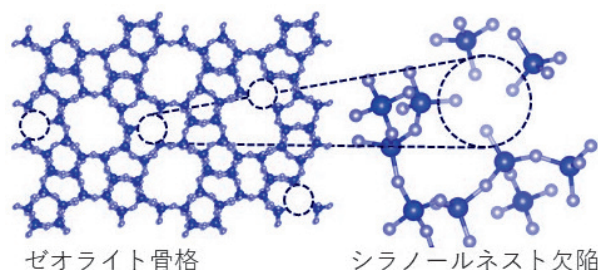


図 2 ゼオライト中のシラノールネスト

青: T 原子, 灰色: 酸素原子, 水素原子は省略されている。

せず簡便な液相での水熱処理により可能であることを見いだした⁵⁾。具体的には、市販されている ZSM-5 ゼオライト (Si/Al=750) を処理溶液に加え、40~170℃にて3~24時間水熱処理を行った。処理溶液としては、水酸化テトラエチルアンモニウム (TEAOH) とフッ化アンモニウム (NH₄F) を用い、TEAOH : NH₄F : H₂O = 0-1 : 0-1.14 : 15 (標準条件 : 0.1 : 0.1 : 15) の組成とした。水熱処理を行ったサンプルは洗浄、乾燥し白色粉末を得た。スチーム耐久試験は自作した試験装置を用いて、10 vol % 水蒸気雰囲気下、3時間、900~1150℃にて行ったところ、処理前においては900℃において結晶性を大きく失い非晶質化したのに対して、処理後のサンプルでは1150℃においても高い結晶性と細孔容積を保つことが分かった (図3 (a))。

非晶質シリカや通常のゼオライトなどの他のシリカ系材料と比較して特異的に高い耐久性を有する材料であると言える。耐久性の向上はシラノール欠陥の低減によると考えられ、²⁹Si MAS NMR スペクトルにおいて、高耐久化したサンプルは欠陥に由来するシグナルが観測されず、検出不可能なほど低減していることが確かめられた。同様に欠陥の低減の様子は FTIR スペクトルにおいても、シラノール基が極端に減少している様子が観察された。また、シラノール欠陥の低減は、耐久性の向上のみならず疎水性の向上にも効果的である。処理前後のサンプルにおいてミクロ孔容積は変化していないが、水の吸着量が処理後のサンプルにおいて大きく低下し、極めて疎水性の高いサンプルが得られていることが分かっている (図3 (b))。

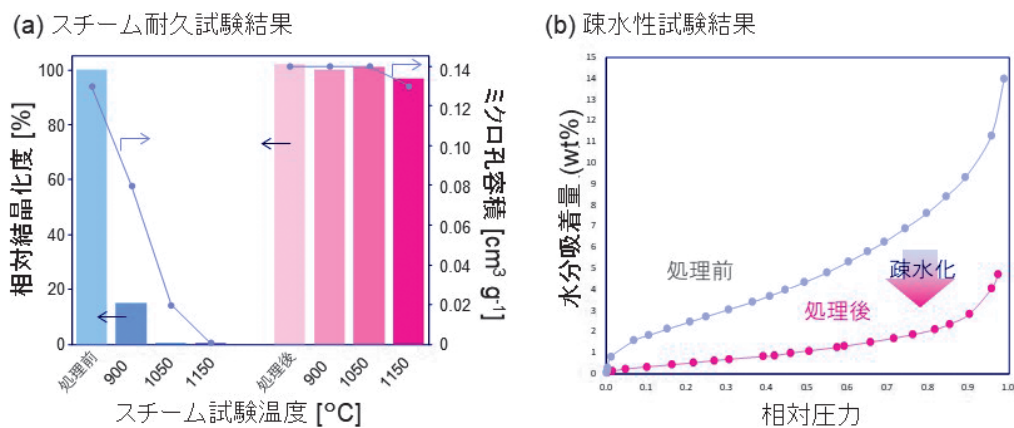


図3 欠陥修復による (a) 耐久化と (b) 疎水化

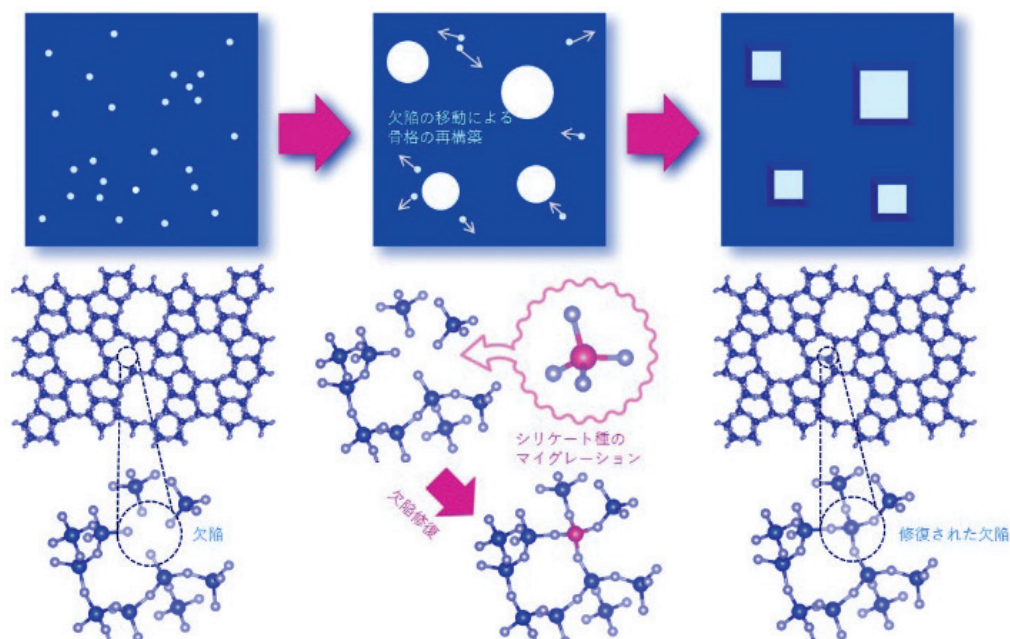


図4 提案した Self-defect healing メカニズム

本処理条件は、高 pH かつフッ化物イオンが存在する水熱処理条件であることから、ゼオライト骨格を形成しているシロキサン結合は、容易に開裂と再縮合を繰り返し、骨格の再構築が起これと考えられる。このとき、細孔内に TEAOH（もしくは TEA カチオン）が存在することにより骨格構造が安定化され（“Pore-filler” 効果）、崩壊せずに構造を保つことができていると考えられる。実際に、TEAOH を用いずに NH_4F のみを用いて処理した場合には結晶化度が大きく低下し、 NH_4F を用いずに TEAOH のみを用いて処理した場合にはゼオライトが溶解することを確認している。ゼオライト合成においては、所望の構造のゼオライトを得るために細孔構造の“鑄型”となる有機構造規定剤（OSDA）を利用することが多いが、処理後のゼオライト中の有機物量は 2 wt %（MFI 型ゼオライトユニットセルあたり 1 分子に相当）程度であり、通常の合成後に含まれている OSDA による有機物量と比較しても 1/4 程度と少ない。TEAOH は骨格を安定化させながらも細孔を完全には満たしておらず、シリケート種がゼオライトの細孔内を拡散することができると考えられる。追加のシリル化剤なしに欠陥を修復するメカニズムについて、“Self-defect healing” として報告している（図 4）が、水熱処理中の結合の形成やシリケート種の移動の様子を直接観察することは難しく、さらなる測定技術の発展に期待している。

3 小細孔ゼオライトに対する脱アルミニウム

欠陥のみならず、ゼオライトの水熱安定性や疎水性に寄与する重要なパラメーターとして組成、特に骨格中の Al 原子の含有量がある。ゼオライト骨格において Al 原子の周囲の酸素原子は負に帯電しており、これをプロトンまたは種々のカチオンの正電荷が補償している。骨格中の Al 原子は、触媒、吸着、イオン交換などゼオライトの多様な能力の源泉となっている一方で、 Al-O-Si 結合の加水分解が骨格構造崩壊の引き金となるという問題がある。このため、場合により後処理を行うなどの手法により Al 原子の含有量を適度に減らすことが高機能なゼオライトを得る上で必要となる。しかしながら、現時点で提案されている後処理による Al 量制御が適用できない系として小細孔ゼオライトがある。小細孔ゼオライトとは、酸素 8 員環を最大の細孔としてもつゼオライトの総称であり、AFX 型、CHA 型などこれまでに約 50 種類の結晶構造が報告されている。小細孔ゼオライトの脱 Al を試みた研究としては Ji らによる CHA 型ゼオライトのスチーミング及び酸処理による脱アルミニウム⁶⁾などがあるが、結晶性を保ったまま骨格 Al を除去するのは困難である。これは、小細孔ゼオライトの小さな細孔径と骨格外 Al 種のサイズの関係で説明できる。ゼオライトから Al を除去するためには、骨格から Al が

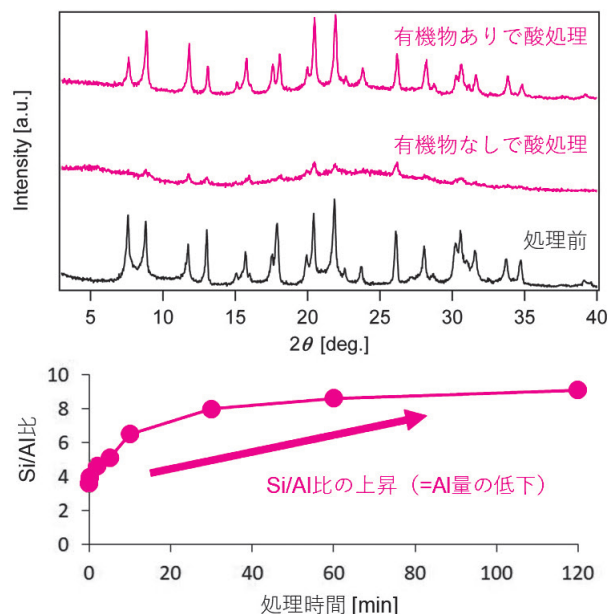


図 5 AFX 型ゼオライトに対する酸処理

脱離して生成した骨格外 Al 種（大きさ 4.5 Å 以上）がゼオライトの細孔を通り抜け骨格外に溶出する必要がある。一方、小細孔ゼオライトの細孔径は 3~4 Å 程度であり、骨格構造にダメージを与えることなく細孔を通じて Al を除去するのが難しい。

ここで、前項にて紹介した欠陥修復処理における“Pore-filler”効果のコンセプトが活きてくる。本研究ではこれに着想を得て、ゼオライト細孔中の有機分子の構造安定化効果を利用しながら脱 Al 処理を行うことを考えた⁷⁾。ゼオライト合成時には、有機物である OSDA の周りにアルミノシリケート骨格が組みあがっていき、そのまま細孔内に取り込まれた OSDA は合成直後のゼオライト中にも存在している。本研究では、この OSDA の構造安定化効果を利用しながらゼオライトを酸処理し、結晶性を保ったまま骨格 Al の除去を行うことにした。まず、合成後に焼成して OSDA を除去した AFX 型ゼオライトについて硫酸溶液を用いた酸処理を実施した。酸処理はゼオライト 0.5 g を 5 mL の純水に分散し、5 mL の 1 M 硫酸を加えたのち 80 °C で 2 時間攪拌したところ、XRD パターンにおいて、結晶に由来するピークの強度が著しく減少し、非晶質に由来するブロードなピークが観測された（図 5、有機物なしで酸処理）。計算された相対結晶化度は 8 % となり大きく低下していることがわかる。

このことから、酸処理により Al が骨格から脱離し液相へと溶出する過程でゼオライトの骨格構造が崩壊したことを示している。続いて焼成を行っていない、すなわち細孔内に OSDA を含んでいる AFX 型ゼオライトの脱アルミニウムを実施した。2 時間の酸処理後も結晶化度は大きく損なわれず、非晶質や不純物相に由来するピークも見られなかった。一方、Si/Al 比は 3.6 から 9.1 に上

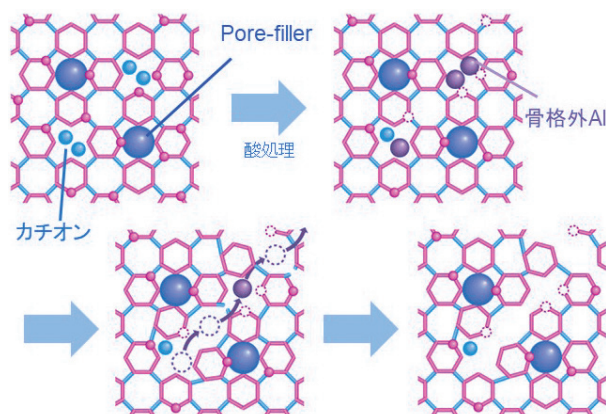


図6 提唱した細孔拡大移動プロセス

昇し、結晶性を保ったまま脱 Al が進行したことが確認された。この Si/Al 比は直接合成では得ることが困難な組成である。断面 SEM-EDS 画像からは、粒子の外側だけでなく内部からも Al 原子が除去されていることが示された。本研究では考えられるスキームとして細孔拡大移動プロセス (pore-opening migration process, POMP) を提唱した (図6)。

このスキームでは、まず骨格 Al の負電荷を補償していた無機カチオンの一部が溶出し、これに伴い電荷がバランスしていた骨格 Al が骨格から脱離し、骨格外 Al 種となる。この反応は酸処理開始直後の数分間の間に急速に進行する。続いて、骨格外 Al 種は部分的に拡大した細孔を通り抜けて徐々に除去される。そして、最終的に Al 含量の少ないゼオライトが得られる。

4 原子位置の制御へ向けた展開

これまでに述べてきた後処理手法が示唆しているのは、ゼオライト骨格の再構築に伴い超秩序構造が変化している可能性である。その可能性を示す興味深い実験結果として、OSDA フリー法で合成されたハイアルミニウムなゼオライトベータへの適用事例⁸⁾がある。ハイシリカゼオライトに対する欠陥修復処理と同様の条件でハイアルミニウムゼオライトベータを処理しても、各種のキャラクタリゼーションにおいて大きな変化は見られず、同じゼオライトのように見える。しかしながら、処理後のゼオライトベータに鉄イオンをイオン効果により導入し、アンモニアを用いた脱硝反応 ($\text{NH}_3\text{-SCR}$) 試験を行うと、低温活性が有意に向上する。活性向上の詳しいメカニズムは分かっておらず、投稿論文においても “Unexpected Low Temperature Activity” として発表したが、活性点である鉄イオンに影響を与える骨格内アルミニウムの配置が変わっている可能性が考えられている。

アルミニウム配置の追跡のために、MOR 型ゼオライトを用いて検討を行った⁹⁾。MOR 型ゼオライトに対し

て、これまで用いてきた液相法による欠陥修復処理、スチーム処理、酸処理の後処理を組み合わせで行った。スチーム処理や酸処理では、骨格からアルミニウムが脱離する一方、欠陥修復処理においては骨格外にある 6 配位のアルミニウムが 4 配位となり骨格に挿入されることが見いだされた。このことは本処理が、アルミニウムの脱離と再挿入によって骨格内アルミニウム配置の変化をもたらしている可能性を示唆するものである。欠陥となるシラノール基と、アルミニウムの位置関係について NMR を用いて詳細に分析することでこれらが近接している可能性を示した。しかしながら、不等価な 4 配位原子が 4 種類存在している MOR 型骨格においては、スペクトルの重複から、不等価な 4 配位原子ごとに完全に分離した解析は困難であることも分かった。最近、筆者らは、不等価な T 原子が 2 種類である MAZ 型ゼオライトをさらなるモデル材料として、後処理によるアルミニウム原子の移動を追跡した結果を得ている¹⁰⁾。

5 おわりに

結晶構造が同一のゼオライトであってもその組成や欠陥の有無、さらには原子の配置といった、disorder-in-order な超秩序構造に由来する差異により応用時の性能が大きく異なってくる。特に最近ではより過酷な反応条件にて働く触媒や、極低濃度の物質を対象とした吸着材など、求められる性能が上がっている。このような中で、超秩序構造の観察や制御の重要性が増している。完全な制御へ向けには多くの検討が必要であるが、様々な分野の方との協業も行いながら貢献していきたい。本研究は、多くの共同研究者のご尽力と、研究費 (主として、ERCA JPMEERF20242M01, JST JPMJSC22C5, NEDO JPNP14004) によるご支援によるものであり、ここに謝意を示す。

文 献

- 1) Ch. Baerlocher, Darren Brouwer, Bernd Marler, L. B. McCusker : *Database of Zeolite Structures*, (<https://www.iza-structure.org/databases/>).
- 2) K. Hayashi (Ed) : “*Hyperordered Structures in Materials Disorder in Order and Order within Disorder*”, (2024), (Springer Nature).
- 3) S. Proding, M. A. Derewinski, A. Vjunov, S. D. Burton, I. Arslan, J. A. Lercher : *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 4408 (2016).
- 4) J. Shin, N. H. Ahn, M. A. Camblor, S. J. Cho, S. B. Hong : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 8949 (2014).
- 5) K. Iyoki, K. Kikumasa, T. Onishi, Y. Yonezawa, A. Chokkalingam, Y. Yanaba, T. Matsumoto, R. Osuga, S. P. Elangovan, J. N. Kondo, A. Endo, T. Okubo, T. Wakihara : *J. Am. Chem. Soc.*, **142**, 3931 (2020).
- 6) Y. Ji, J. Birmingham, M. A. Deimund, S. K. Brand, M. E. Davis : *Microporous Mesoporous Mater.*, **232**, 126 (2016).
- 7) T. Yoshioka, K. Iyoki, Y. Hotta, Y. Kamimura, H. Yamada, Q. Han, T. Kato, C. A. J. Fisher, Z. Liu, R. Ohnishi, Y. Yanaba, K. Ohara, Y. Sasaki, A. Endo, T. Takewaki, T. Sano, T.

- Okubo, T. Wakiyama : *Sci. Adv.*, **8**, eabo3093 (2022).
- 8) J. Yu, K. Iyoki, S. P. Elangovan, H. Fujinuma, T. Okubo, T. Wakiyama : *Chem. Eur. J.*, **e202303177**, (2023).
- 9) Y. Fujikawa, T. Yoshioka, K. Iyoki, T. Ohkubo, T. Okubo, T. Wakiyama : *J. Phys. Chem. C*, **128**, 9331 (2024).
- 10) Y. Yoshida, K. Yamashita, K. Muraoka, M. Hasumi, R. Osuga, Y. Yanaba, K. Nakajima, A. Nakayama, T. Wakiyama, T. Okubo, K. Iyoki : under revision.



伊與木 健太 (IYOKI Kenta)
東京大学大学院新領域創成科学研究科
(〒277-8563 千葉県柏市柏の葉 5-1-5).
東京大学大学院工学系研究科化学システム
工学専攻博士課程修了. 博士 (工学). 《現
在の研究テーマ》多孔質材料の合成と応
用.
E-mail : iyoki@edu.k.u-tokyo.ac.jp

日本分析化学会の機関月刊誌『ぶんせき』の再録集 vol. 2 が出版されました！ 初学者必見！ 正しく分析するための 241 ページです。

本書は書籍化の第二弾として、「入門講座」から分析試料の取り扱いや前処理に関する記事、合計 36 本を再録しました。『ぶんせき』では、分析化学の初学者から専門家まで幅広い会員に向けて、多くの有用な情報を提供し続けています。これまで掲載された記事には、分析化学諸分野の入門的な概説や分析操作の基礎といった、いつの時代でも必要となる手ほどきや現役の研究者・技術者の実体験など、分析のノウハウが詰まっています。

本書は下記の二章だてとなっています。

〈1 章 分析における試料前処理の基礎知識〉

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. 土壌中重金属分析のための前処理法 | 11. 大気中揮発性有機化合物分析のための前処理 |
| 2. 岩石試料の分析のための前処理法 | 12. 放射性核種分析のための前処理法 |
| 3. プラスチック試料の分析のための前処理法 | 13. 脂質分析のための前処理法 |
| 4. 金属試料分析のための前処理 | 14. 糖鎖分析のための試料前処理 |
| 5. 分析試料としての水産生物の特徴と取り扱い | 15. イムノアッセイのための前処理法 |
| 6. 食品分析のための前処理法 | 16. 加速器質量分析における超高感度核種分析のための試料前処理法 |
| 7. Dried blood spot 法による血液試料の前処理 | 17. 生元素安定同位体比分析のための試料前処理法 |
| 8. 生体試料のための前処理法 (液-液抽出) | 18. セラミックス試料分析のための前処理法 |
| 9. 生体試料のための前処理法 (固相抽出) | |
| 10. 環境水試料の分析のための前処理法 | |

〈2 章 分析試料の正しい取り扱いかた〉

- | | |
|---------------------------|--------------------|
| 1. 生体 (血液) | 10. 岩石 |
| 2. 生体 (毛髪) | 11. 食品 (農産物の残留農薬) |
| 3. 金属 (非鉄金属) | 12. ガラス |
| 4. 金属 (鉄鋼) | 13. 環境 (陸水) |
| 5. 食品 (酒類) | 14. 温泉付随ガス |
| 6. 医薬品 (原薬・中間体・原料) | 15. 透過電子顕微鏡観察の試料調整 |
| 7. 海水 (微量金属) | 16. 環境 (ダイオキシン類) |
| 8. 考古資料 | 17. 高分子材料 |
| 9. 海底下の試料 (地球深部の堆積物および岩石) | 18. 沈降粒子 |

なお、『ぶんせき』掲載時から数年が経過しているため、記事の中には執筆者の所属も含め、部分的に現在の状況とは異なる内容を含むものがあるかもしれません。本書では、各記事の『ぶんせき』掲載年を明記することで、再録にともなう本文改稿を割愛しました。これらの点については、執筆者および読者の方々にご承知いただきたく、お願い申し上げます。本シリーズが化学分析の虎の巻として多くの方に活用されることを願ってやみません。

深共晶溶媒について

岡村 浩之

1 はじめに

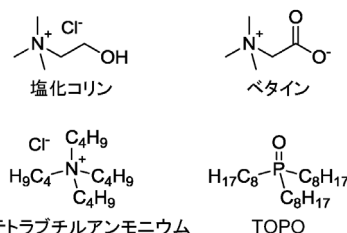
深共晶溶媒 (deep eutectic solvents, DESs) は、水素結合のような強い分子間相互作用が働く 2 種類以上の物質から構成される液体の総称であり、近年、新たな媒体として注目されている¹⁾²⁾。深共晶溶媒に関する初期の研究は、2001 年に Abbott らによって報告され、塩化コリン (塩化 (2-ヒドロキシエチル) トリメチルアンモニウム; 分解温度 302 °C) と塩化亜鉛 (融点 293 °C) を 1 : 2 のモル比で混合すると、融点が 23~25 °C の液体が得られることを見いだした³⁾。Abbott らは 2003 年には、塩化コリンと尿素 (融点 133 °C) を 1 : 2 のモル比で混合すると、融点が 12 °C まで低下し、室温で液体となることを明らかにし、「深共晶溶媒」という用語を考案した⁴⁾。これらの先駆的な研究以降、深共晶溶媒に関する研究開発が活発に行われるようになり、これまでに多くの深共晶溶媒が報告されてきた。深共晶溶媒は、水や有機溶媒などの分子液体とは異なる魅力的な特性を有することから、分離化学⁵⁾、蓄電池⁶⁾、触媒⁷⁾、医薬品⁸⁾などの幅広い分野で注目を集めている。本稿では、深共晶溶媒の分類と特徴、調製方法について解説し、液液抽出媒体および固液抽出媒体、次世代蓄電池の電解液として利用した最近の研究について紹介する。深共晶溶媒の定義に関しては「深 (deep)」を含めさまざまな議論があるものの、ここでは広い意味で共晶効果により融点が低下し、室温で液体となる物質を深共晶溶媒とみなす。なお、深共晶溶媒については、城田による本誌のミニファイル⁹⁾のほか、和文の成書¹⁰⁾も出版されているので併せて参照されたい。

2 深共晶溶媒の分類と特徴

2.1 深共晶溶媒の分類と構成成分

前項において、先駆的な研究例として二つの深共晶溶媒を紹介したが、一般的に深共晶溶媒は、構成成分の種類と組み合わせによって、大きく 5 種類に分類される。表 1 に深共晶溶媒の分類と組み合わせを示す。また、図 1 に代表的な深共晶溶媒構成成分の化学構造を水素結合受容体と水素結合供与体に分けて示す。

水素結合受容体



水素結合供与体

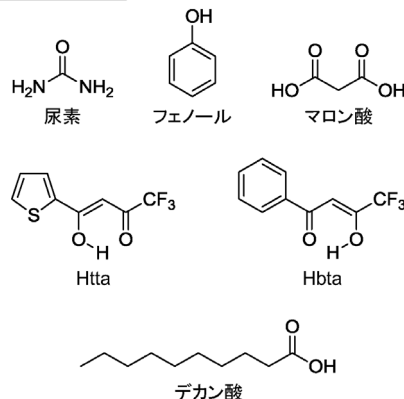


図 1 代表的な水素結合受容体と水素結合供与体の化学構造

表 1 深共晶溶媒の分類と組み合わせ

型	組み合わせ	一般式	例 (モル比)	文献
I	有機ハロゲン化物塩 + 金属ハロゲン化物塩	$\text{Cat}^+ \text{X}^- *1 *2 + \text{MX}_y *3$	塩化コリン + ZnCl_2 (1 : 2)	3)
II	有機ハロゲン化物塩 + 金属ハロゲン化物塩水和物	$\text{Cat}^+ \text{X}^- + \text{MX}_y \cdot z\text{H}_2\text{O}$	塩化コリン + $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 : 1)	11)
III	有機ハロゲン化物塩 + 水素結合供与体	$\text{Cat}^+ \text{X}^- + \text{HBD} *4$	塩化コリン + 尿素 (1 : 2)	4)
IV	金属ハロゲン化物塩 + 水素結合供与体	$\text{MX}_y + \text{HBD}$	ZnCl_2 + 尿素 (1 : 3.5)	12)
V	水素結合受容体 + 水素結合供与体	$\text{HBA} *5 + \text{HBD}$	$\text{TOPO} *6$ + フェノール (1 : 1)	13)

*1 Cat^+ : 有機カチオン, *2 X^- : ハロゲン化物イオン, *3 M: 金属カチオン, *4 HBD: 水素結合供与体, *5 HBA: 水素結合受容体, *6 TOPO: トリオクチルホスフィンオキシド

I型は、有機ハロゲン化物塩と金属ハロゲン化物塩の混合物であり、前述の塩化コリンと塩化亜鉛（モル比1：2）からなる深共晶溶媒³⁾が該当する。この深共晶溶媒は、第四級アンモニウムカチオンと ZnCl_3^- アニオンによって形成されることから、クロロアルミネート系イオン液体と類似したタイプであると考えることができる。II型は、有機ハロゲン化物塩と金属ハロゲン化物塩水和物の混合物であり、塩化コリンと塩化マグネシウム六水和物（モル比1：1）からなる深共晶溶媒¹¹⁾が該当する。I型の深共晶溶媒の種類は限られているが、金属ハロゲン化物塩水和物を用いることで、深共晶溶媒の範囲を拡大することができる。多くの金属塩水和物は比較的安価であり、空気や水に対して安定であることから、大規模な工業プロセスでの利用が可能と考えられる。III型は、有機ハロゲン化物塩と非イオン性の水素結合供与体の混合物であり、前述の塩化コリンと尿素（モル比1：2）からなる深共晶溶媒⁴⁾が該当する。これまでにさまざまな水素結合供与体が研究されており、アミド、カルボン酸、アルコールを用いると深共晶溶媒を形成することが報告されている。このタイプの深共晶溶媒は利用可能な水素結合供与体が多く、汎用性が高いと言える。IV型は、金属ハロゲン化物塩と非イオン性の水素結合供与体の混合物であり、塩化亜鉛と尿素（モル比1：3.5）からなる深共晶溶媒¹²⁾が該当する。III型の有機ハロゲン化物塩の代わりに金属ハロゲン化物塩を利用することができ、これらはIV型に分類される。塩化亜鉛は、アセトアミド、エチレングリコール、1,6-ヘキサジオールとも深共晶溶媒を形成することが知られている¹²⁾。V型は、非イオン性の水素結合受容体と水素結合供与体の混合物であり、トリオクチルホスフィンオキシド（TOPO）とフェノール（モル比1：1）からなる深共晶溶媒¹³⁾が該当する。分子性物質のみで構成されることから、新しいタイプの深共晶溶媒として考えられている。このタイプの深共晶溶媒は、構成成分として金属抽出剤を組み込むことで、溶媒抽出への利用が有望視されている⁵⁾。

以前は、有機ハロゲン化物塩や金属ハロゲン化物塩からなるI～IV型の深共晶溶媒の報告が多かったが、近年では、非イオン性の水素結合受容体と水素結合供与体からなるV型の深共晶溶媒が多く報告されている。また、クエン酸とスクロース、グルコースと酒石酸の組み合わせのように、天然物から調製できる深共晶溶媒も報告されており、このような深共晶溶媒は天然深共晶溶媒（natural deep eutectic solvents, NADESs）と呼ばれることもある¹⁴⁾。現在では、I～V型に属さない新たな深共晶溶媒も報告されており、3成分の混合物からなる深共晶溶媒も多数報告されている。

2・2 深共晶溶媒の特徴

深共晶溶媒は、各構成成分と比較して融点が大幅に低下し、室温において液体となる点が大きな特徴である。深共晶溶媒の融点は、構成成分の混合比率によって大きく変化し、共晶点組成において最も低い値を示す。室温で液体となる点においては、イオン液体と同様であるが、イオン液体はカチオンとアニオンから構成される塩であるのに対して、深共晶溶媒は水素結合などの分子間相互作用が働く2種類以上の物質から構成される混合物である。

深共晶溶媒は一般的に、蒸気圧が低く、難燃性で、高い熱安定性を有するなど、イオン液体と類似した性質を持ち、環境調和型溶媒として注目されている。また、構成成分の組み合わせと混合比率によって物性を調節可能である。深共晶溶媒は親水性のものが多く、長鎖アルキル基を有する化合物などの水に難溶な物質から構成される深共晶溶媒は疎水性を示し、水-深共晶溶媒の二相系を構築することができる。一般的に粘性が高く、電気伝導度は低いものが多いが、近年、高い電気伝導度を有する新たな深共晶溶媒¹⁵⁾¹⁶⁾も報告されている。

3 深共晶溶媒の調製

深共晶溶媒は、調製が容易であり、2種類以上の物質を混合し、必要に応じて加熱するだけで、目的物を得ることができる。最も一般的な調製方法は、不活性ガス雰囲気下などで、深共晶溶媒の構成成分を混合し、均一な液体が形成されるまで加熱攪拌することである。溶媒を添加する必要はなく、調製後の精製も不要である。イオン液体では、有機ハロゲン化物塩の合成やイオン交換反応に加えて、精製や乾燥が必要となることから、深共晶溶媒はイオン液体よりも調製が容易であるという大きなメリットがある。

その他の調製方法としては、粉碎法、真空蒸発法、凍結乾燥法などがある。粉碎法では、不活性ガス雰囲気下などで、二つ以上の固体成分を乳鉢に入れ、透明で均一な液体になるまで粉碎する。真空蒸発法では、構成成分を水などの分子溶媒に溶解した後、真空下で分子溶媒の大部分を蒸発させ、乾燥させることで深共晶溶媒を得る。凍結乾燥法では、構成成分を水に溶解した後、これらの溶液を混合し、凍結乾燥させることで均一な液体を得る¹⁷⁾。深共晶溶媒の調製に水などの分子溶媒を使用した場合は、分子溶媒の残留や分子溶媒に含まれる不揮発性不純物の混入が不可避であるため注意が必要である。

4 深共晶溶媒の応用

4・1 液液抽出媒体としての利用

化学工業における分離精製プロセスにおいて、液液抽出（溶媒抽出）は重要な役割を担っている。しかしながら、溶媒抽出で使用される有機溶媒は、揮発性、可燃

性、毒性といった問題点を抱え、環境や人体への影響が懸念されていることから、安全性が高く環境負荷の小さい溶媒の利用が求められている。このような背景から、有機溶媒に代わる抽出媒体として深共晶溶媒を利用する研究が数多く行われている。

深共晶溶媒を溶媒抽出における抽出媒体として利用するためには、水と混和せず二相を形成する必要がある。金属イオンの溶媒抽出においては、中性配位子 TOPO から構成される疎水性深共晶溶媒を用いた研究が多く報告されている^{13)18)~23)}。Gilmore らは、TOPO とフェノールをさまざまなモル比で混合させることで深共晶溶媒の調製を試み、TOPO のモル分率 (χ_{TOPO}) が 0.1 から 0.6 の範囲において室温で液体となるとともに、疎水性を示し、水と二相を形成することを明らかにした¹³⁾。TOPO とフェノールのモル比が 1 : 1 ($\chi_{\text{TOPO}}=0.50$) の深共晶溶媒を用いて、0.01, 1.00, 3.00 mol dm⁻³ 硝酸水溶液からの硝酸ウラニル (VI) の抽出を検討した結果、いずれの硝酸濃度においても振とう後の水相中の硝酸ウラニル (VI) 濃度は 0.50 ppm 以下となり、硝酸ウラニル (VI) を定量的に深共晶溶媒相に抽出できることを示した。また、Byrne らは、TOPO と 18 種類の水素結合供与体を混合することで、室温で液体となる組み合わせを調べた¹⁸⁾。液体となった TOPO とマロン酸 (モル比 2 : 1) からなる深共晶溶媒を用いて、塩酸水溶液からのガリウム (III) の抽出を検討した結果、水相の塩酸濃度の増加とともにガリウム (III) の抽出率が増加し、塩酸濃度が 4 mol dm⁻³ 以上で定量的に抽出できることを明らかにした。さらに、1 mol dm⁻³ を超えるガリウム (III) を抽出可能であり、抽出容量が従来の有機溶媒系よりも約 3 桁高いことも示した。

溶媒抽出において、陰イオン性配位子と中性配位子などの 2 種類の抽出剤を併用した協同効果により、金属イオンの抽出分離能が大幅に向上することが知られている。TOPO は代表的な協同効果試薬であり、 β -ジケトンなどの陰イオン性配位子と組み合わせると協同効果が発現することがある。Hanada らは、TOPO と 2-テノイルトリフルオロアセトン (Htta) あるいはベンゾイルトリフルオロアセトン (Hbta) を 1 : 2 のモル比で混合すると、室温で液体の深共晶溶媒を形成することを明らかにし、これらの深共晶溶媒を用いてリチウム、ナトリウム、カリウムイオンの抽出分離能を評価した¹⁹⁾。TOPO と Htta (モル比 1 : 2) からなる深共晶溶媒による抽出は、Li >> Na > K の順であり、リチウムを選択的に抽出分離できるとともに、トルエンを用いた Htta と TOPO の協同効果抽出系よりも低 pH 側で抽出可能であることを見いだした。TOPO と Hbta (モル比 1 : 2) からなる深共晶溶媒を用いても同様の抽出挙動を示すことを明らかにした。

Cruz らは、TOPO とデカン酸のモル比が 1 : 1 の深共

晶溶媒を用いて、ニッケル水素電池酸浸出液からの希土類金属の抽出を研究した²⁰⁾。浸出液として 2.0 mol dm⁻³ 硫酸、メタンスルホン酸、硝酸の 3 種類を検討し、硝酸を用いるとマンガン、コバルト、ニッケル、ランタン、セリウムなどが含まれる浸出液の中から、ランタンとセリウムを選択的に深共晶溶媒相に抽出分離でき、水相と深共晶溶媒相の質量比が 1 : 8 のとき、抽出率はそれぞれ 96 %、98 %であることを示した。また、Guidugli らは、TOPO と水素結合供与体のプロパノール、メントール、オクタン酸をさまざまなモル比で混合した深共晶溶媒を調製し、水溶液からのセリウム (III) の抽出特性を評価した²¹⁾。深共晶溶媒中の水素結合供与体のモル分率が増加すると、すべての深共晶溶媒においてセリウム (III) の抽出率が低下し、TOPO のモル分率が増加すると抽出率は増加した。このことから、これらの系では、抽出において TOPO が重要な役割を果たすことが示された。TOPO と水素結合供与体のモル比が 1 : 1 の深共晶溶媒を用いて、水素結合供与体の種類の比較を行ったところ、プロパノール (94.4 %) > メントール > オクタン酸 (68.2 %) の順となり、プロパノールで最も高い抽出率を示した。

4・2 固液抽出媒体としての利用

使用済み工業製品に含まれるレアメタルをリサイクルする際には、高濃度の無機酸を使用してレアメタルを浸出させ、溶媒抽出などの湿式法を用いて目的物質を分離回収する。しかしながら、このような従来の湿式分離プロセスでは、浸出および溶媒抽出で大量の高濃度無機酸と有害な有機溶媒を使用するため、これらの化学薬品を使用しない代替技術の開発が求められている。近年、金属リサイクルで使用される無機酸および有機溶媒の代替として、深共晶溶媒を利用する研究が行われている。

Hanada らは、前述の TOPO と Hbta (モル比 1 : 2) および TOPO とデカン酸 (モル比 1 : 1) からなる深共晶溶媒を用いて、リチウムイオン電池正極材料からのリチウム、コバルト等の抽出を研究した²²⁾。はじめに、これらの深共晶溶媒を用いて、リチウム、マンガン、コバルト、ニッケルの液液抽出挙動を調べ、TOPO とデカン酸よりも TOPO と Hbta からなる深共晶溶媒の方がこれらの金属に対する抽出能が高く、後者による抽出は pH 1 から始まり、Mn > Co > Ni >> Li の順であることを示した。正極活物質であるコバルト酸リチウムからの浸出において、これらの深共晶溶媒をそのまま用いた場合は、リチウムとコバルトの浸出はごくわずかであったが、TOPO と Hbta からなる深共晶溶媒に少量の水を添加すると、これらの金属の浸出能は向上した。さらに、アスコルビン酸を添加すると浸出能がより向上し、0.15 mol dm⁻³ の添加において浸出率はリチウムが 93.0 %、コバルトが 90.6 %であった。三元系正極材 NMC111 や

正極材ブラックマスからの浸出についても検討しており、最適条件においてリチウム、マンガン、コバルト、ニッケルを高効率で浸出できることを明らかにした。

この深共晶溶媒は、希土類金属の溶媒抽出および溶解にも利用できる。Hanada らは、TOPO と Hbta (モル比 1:2) からなる深共晶溶媒に加えて、アルキル鎖長の短いトリブチルホスフィンオキシド (TBPO) と Hbta (モル比 1:2) からなる深共晶溶媒を調製し、液液抽出および溶解媒体として用いて、鉄、コバルト、ネオジウム、ジスプロシウムの分離を検討した²³⁾。TOPO と Hbta からなる深共晶溶媒を用いた金属酸化物の溶解においては、液液抽出では分離が困難であったネオジウムを選択的かつ定量的に溶解分離可能であり、TBPO と Hbta からなる深共晶溶媒では、酸化ネオジウムと酸化ジスプロシウムの両方を定量的に溶解でき、アルキル鎖長の異なる種々の有機酸を添加することで選択性を制御できることを明らかにした。

Cao らは、カプロラクタム、尿素、ギ酸 (モル比 3:1:n; n = 1.9, 2.4, 3.2, 4.8) からなる三成分系深共晶溶媒を開発し、リチウムイオン電池の正極活物質であるコバルト酸リチウムからの金属の抽出を研究した²⁴⁾。リチウムは深共晶溶媒に選択的に浸出でき、最適条件下で 99 % を超える浸出率が得られることを示した。一方、コバルトはギ酸によって還元されて紫色の $\text{NH}_4\text{Co}(\text{HCOO})_3$ を形成することで深共晶溶媒の底部に沈殿し、直接回収可能であることを明らかにした。さらに、三元系正極材 NCM523 および NCM622 からの浸出も検討し、最適条件においてリチウム、マンガン、コバルト、ニッケルの浸出率は、NCM523 が約 90 %、NCM622 が 82 % 以上であり、 $\text{NH}_4\text{M}(\text{HCOO})_3$ (M = Ni, Co, Mn) の沈殿物を回収できることも示した。

4.3 蓄電池電解液としての利用

持続可能な社会の実現に向けて、再生可能エネルギーの普及とエネルギー貯蔵技術の高度化が喫緊の課題となっている。エネルギー貯蔵の中心的な役割を担う蓄電池は、高性能化、安全性向上、低コスト化が求められており、これらの課題解決に向けて、次世代蓄電池の開発が進められている。蓄電池の構成要素の一つである電解液は、蓄電池において重要な役割を果たしており、近年、次世代蓄電池の電解液として深共晶溶媒を用いた研究が行われている。

Liu らは、過塩素酸亜鉛六水和物 ($\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、ブタンジニトリル、塩化リチウム (LiCl) (モル比 4:25:1) からなる三成分系深共晶溶媒をメタクリルオキシエチルスルホベタインおよびアクリル酸ヒドロキシエチルモノマーと混合し、紫外線重合を行うことで、深共晶溶媒ベースのゲル電解液を調製し、 $-20 \sim 70^\circ\text{C}$ の幅広い温度範囲で作動する水系亜鉛イオン電池の開発に成

功した²⁵⁾。この電解液により、界面副反応および亜鉛デンドライト形成が効果的に抑制され、優れたサイクル安定性を示すことも明らかになった。また、Cao らは、塩化コリンとエチレングリコール (モル比 1:2) からなる深共晶溶媒を用いて、 $\text{Fe}(\text{III})/\text{Fe}(\text{II})$ および $\text{Zn}(\text{II})/\text{Zn}$ レドックス対をそれぞれ正極活物質および負極活物質とした非水系亜鉛-鉄レドックスフロー電池を研究した²⁶⁾。クーロン効率は 50 サイクル以上にわたって約 100 % を維持し、優れたサイクル安定性を示すことを明らかにした。

Sheng らは、硝酸リチウム (LiNO_3) と *N*-メチルアセトアミド (モル比 1:4) からなる深共晶溶媒を調製し、リチウム-酸素電池の電解液として利用した²⁷⁾。この電解液は、強力な水素結合相互作用により 3.2 mol dm^{-3} という高い LiNO_3 濃度を可能にし、リチウム金属負極との親和性を向上させるだけでなく、効率的な酸化メディエーターとしても機能し、電池は優れたサイクル安定性を示すことを明らかにした。また、Huang らは、ナトリウムビス (フルオロスルホニル) イミド (NaFSI) と 2-シアノ-3-エトキシアクリル酸エチルを 1:2 あるいは 1:3 のモル比で混合した新規深共晶溶媒を開発し、炭酸ビニレンをモノマーとして用いて深共晶溶媒ベースのゲル電解液を作製して、ナトリウム金属電池に利用した²⁸⁾。モル比 1:3 の深共晶溶媒を用いたゲル電解液により、ナトリウムイオンの脱溶媒和と輸送が促進されるとともに、電極/電解液界面の安定性が向上し、優れた長期サイクル安定性を示すことを明らかにした。

5 おわりに

本稿では、深共晶溶媒の基礎から応用までを最近の論文とともに紹介した。深共晶溶媒に関する論文は近年急激に増加しており、学術界において高い関心を集めている。しかしながら、現在でも未解明な点が多く、深共晶溶媒の可能性を最大限に引き出すためには、基礎研究のさらなる深化が必要不可欠である。分析化学分野では、液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動における分離媒体としても利用されており、その他にもさまざまな手法への応用が期待されている。さらに、深共晶溶媒はその特異的な性質から、従来の液体では困難であった分離や分析を可能にし、既存の分析化学手法の高度化や新たな分析化学手法の開発に貢献する可能性を秘めている。今後、深共晶溶媒が多くの研究で活用されることを期待している。本稿が深共晶溶媒研究の推進と分析化学の発展の一助となれば幸いである。

文 献

- 1) E. L. Smith, A. P. Abbott, K. S. Ryder: *Chem. Rev.*, **114**, 11060 (2014).

- 2) B. B. Hansen, S. Spittle, B. Chen, D. Poe, Y. Zhang, J. M. Klein, A. Horton, L. Adhikari, T. Zelovich, B. W. Doherty, B. Gurkan, E. J. Maginn, A. Ragauskas, M. Dadmun, T. A. Zawodzinski, G. A. Baker, M. E. Tuckerman, R. F. Savinell, J. R. Sangoro : *Chem. Rev.*, **121**, 1232 (2021).
- 3) A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, H. L. Munro, R. K. Rasheed, V. Tambyrajah : *Chem. Commun.*, **2001**, 2010.
- 4) A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, R. K. Rasheed, V. Tambyrajah : *Chem. Commun.*, **2003**, 70.
- 5) N. Schaeffer, I. C. M. Vaz, M. S. Pinheiro, F. Olea, T. Hanada, S. Dourdain, J. A. P. Coutinho : *Green Chem.*, **27**, 4438 (2025).
- 6) Z. Liu, F. Feng, W. Feng, G. Wang, B. Qi, M. Gong, F. Zhang, H. Pang : *Energy Environ. Sci.*, **18**, 3568 (2025).
- 7) E. Guzmán : *ChemCatChem*, **17**, e202500522 (2025).
- 8) E. Chevé-Kools, Y. H. Choi, C. Roullier, G. Ruprich-Robert, R. Grougnet, F. Chapeland-Leclerc, F. Hollmann : *Green Chem.*, **27**, 8360 (2025).
- 9) 城田秀明 : ぶんせき (*Bunseki*), **2025**, 99.
- 10) 馬場由成 (監修) : “深共晶溶媒の開発と応用”, (2025), (シーエムシー出版).
- 11) H. Wang, Y. Jing, X. Wang, Y. Yao, Y. Jia : *J. Mol. Liq.*, **163**, 77 (2011).
- 12) A. P. Abbott, J. C. Barron, K. S. Ryder, D. Wilson : *Chem. Eur. J.*, **13**, 6495 (2007).
- 13) M. Gilmore, É. N. McCourt, F. Connolly, P. Nockemann, M. Swadźba-Kwaśny, J. D. Holbrey : *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **6**, 17323 (2018).
- 14) R. Craveiro, I. Aroso, V. Flammia, T. Carvalho, M. T. Viciosa, M. Dionísio, S. Barreiros, R. L. Reis, A. R. C. Duarte, A. Paiva : *J. Mol. Liq.*, **215**, 534 (2016).
- 15) H. Shirota, M. Koyakkat, M. Cao, M. Shimizu, S. Asakura, H. Kawamoto, K. Moriyama : *J. Mol. Liq.*, **372**, 121176 (2023).
- 16) M. Koyakkat, K. Moriyama, S. Asakura, H. Kawamoto, H. Shirota : *J. Mol. Liq.*, **384**, 122250 (2023).
- 17) M. C. Gutiérrez, M. L. Ferrer, C. R. Mateo, F. del Monte : *Langmuir*, **25**, 5509 (2009).
- 18) E. L. Byrne, R. O'Donnell, M. Gilmore, N. Artioli, J. D. Holbrey, M. Swadźba-Kwaśny : *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **22**, 24744 (2020).
- 19) T. Hanada, M. Goto : *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **9**, 2152 (2021).
- 20) K. A. M. L. Cruz, F. R. P. Rocha, M. C. Hespanhol : *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **12**, 6169 (2024).
- 21) L. F. Guidugli, T. Reza : *Ind. Eng. Chem. Res.*, **63**, 12582 (2024).
- 22) T. Hanada, M. Goto : *Green Chem.*, **24**, 5107 (2022).
- 23) T. Hanada, N. Schaeffer, M. Katoh, J. A. P. Coutinho, M. Goto : *Green Chem.*, **26**, 9671 (2024).
- 24) S. Cao, Y. Ma, L. Yang, L. Lin, J. Wang, Y. Xing, F. Lu, T. Cao, Z. Zhao, D. Liu : *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **11**, 16984 (2023).
- 25) Q. Liu, J. Li, D. Xing, Y. Zhou, F. Yan : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **64**, e202414728 (2025).
- 26) X. Cao, X. Wang, X. Xue : *ChemSusChem*, **18**, e202401604 (2025).
- 27) C. Sheng, W. Li, H. Zhou, P. He : *Chem. Commun.*, **61**, 7265 (2025).
- 28) Y. Huang, G. Qiu, Z. Tai, Y. Liu : *ChemSusChem*, **18**, e202500417 (2025).



岡村 浩之 (OKAMURA Hiroyuki)

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構
原子力科学研究所先端基礎研究センター
(〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白
方2番地4). 金沢大学大学院自然科学研
究科物質科学専攻博士後期課程修了。博士
(理学), 第一種放射線取扱主任者。《現在
の研究テーマ》深共晶溶媒およびイオン液
体を用いた物質分離。《主な著書》“深共晶
溶媒の開発と応用”, (分担執筆), (シーエ
ムシー出版)。

E-mail : okamura.hiroyuki@jaea.go.jp

がん選択的ホウ素中性子捕捉療法を企図した多重標的型ポリロタキサン

東 大 志, 荒 瀬 春 輝, 伊 敷 帆 夏, 本 山 敬 一

1 背 景

1.1 がん中性子捕捉療法

近年, 光や超音波, 中性子線などの物理エネルギーを患部に照射することで標的部位でのみ薬剤を活性化させるがんの治療法が注目されている。とりわけ中性子捕捉療法 (BNCT) は, ホウ素 (^{10}B) と熱中性子との核反応で生じる高 LET (linear energy transfer) 放射線の α 粒子 (ヘリウムイオン: ^4He) およびリチウム原子核 (^7Li) を用いてがん細胞のみを破壊する放射線治療であり, 多くの利点を有している。例えば, 既存の放射線治療では約 30 回 (6 週間) 程度の照射が必要となるが, BNCT では多くの場合 1 回 (1 日) の照射で治療が終了する。また, 中性子線照射により生じる原子核の飛程距離はいずれも 4~9 μm であり, 細胞 1 個分のサイズと同程度であることから, 正常組織への影響は少ないと言われている。

1.2 ホウ素薬剤

BNCT は, ホウ素を含有する化合物 (ホウ素薬剤) を投与後, がんに集積したホウ素薬剤に中性子線を照射することで実施される。そのため, ホウ素薬剤をがん選択的に集積させることが重要となる。現在 BNCT に用いられるホウ素薬剤は, メルカプトウンデカヒドロデカボレート (BSH) およびボロノフェニルアラニン (BPA) の 2 種類があるが, がん細胞選択性の高さから BPA が汎用されている。BPA は, フェニルアラニン構造を有するフェニルボロン酸であり, がん細胞において過剰発現しているアミノ酸トランスポーター (LAT1) を介してがん細胞選択的に取り込まれる。LAT1 は, 血液脳関門や胎盤関門などでわずかに発現がみられるものの, 正常組織での発現量が低いことから, がん細胞を標的としたアクティブターゲティングが可能となる。しかしながら, BPA はアンチポートメカニズムによってがん組織から速やかに排泄されることから, 腫瘍中濃度を保つために高用量による連続投与が必要となっている。

BPA のがん集積性や滞留性を改善する方法として, 近年 Nomoto らは, BPA とポリビニルアルコール (PVA) を可逆的に結合させ, BPA を高分子量化することでトランスポーターではなく, エンドサイトーシスを介して

細胞内に取り込ませる知見を報告した¹⁾。これにより, アンチポートを回避し, BPA のがん細胞内における滞留性が向上することで, 治療効果が劇的に向上した。また, Maruyama らは, ホウ素薬剤をリポソームに封入することで腫瘍内における滞留性を向上させ, 静脈内投与後, がん組織中 BPA 濃度を高く維持することに成功した²⁾。このように, BNCT において, 細胞内取り込み経路およびがん組織・がん細胞における滞留性を制御可能な薬物送達システム (DDS) を開発することは極めて重要といえる。

1.3 フェニルボロン酸

薬物やキャリアにがん移行性リガンドを修飾すると, がんへの選択性や集積性が向上することから, アクティブターゲティング素子として様々なリガンドが多用されている。がん移行性リガンドの例として, 抗体, ペプチド, 糖, 葉酸, フェニルボロン酸 (PBA) などが知られている。なかでも, PBA は, 1) 腫瘍マーカーであるシアル酸 (SA) と結合する, 2) 分子量が 184 Da と比較的小さくキャリアの物性に影響を与えにくい, 3) 安価である, などの利点からリガンド分子として注目されている。例えば Tang らは, ナノ粒子に PBA を修飾することで, がん移行性が向上することを報告した³⁾。また Deshayes らは, 高分子ミセルに PBA を修飾したナノキャリアが, 静脈内投与後, PBA 非修飾群よりもがん細胞における取り込みや治療効果に優れることを報告している⁴⁾。特筆すべきこととして, PBA は分子内にホウ素を含むため, それ自体がホウ素薬剤として有用である可能性があり, BNCT において, がん移行性リガンドとホウ素薬剤の二刀流として機能することが期待できる。

1.3 ポリロタキサン

PBA をがん移行性リガンドとして用いる場合, 単体で使用すると, がん細胞表面の SA と 1 点のみで相互作用 (単価相互作用) するため, がん移行性が制限される。これに対して, 複数の PBA を薬物キャリアに修飾すると, 細胞表面の複数の SA と多点で相互作用 (多価相互作用) できるため, がん細胞への親和性が向上する。しかし, がん細胞表面の SA の分布と PBA 間で空間的なミスマッチが生じるため, がん細胞への親和性に

は限界がある。

ポリロタキサン (PRX) と呼ばれる超分子化合物にリガンドを修飾すると、リガンドが可動となる結果、標的細胞表面の受容体の分布を認知して空間的ミスマッチを回避しながら多価相互作用可能なことが知られている⁵⁾。筆者らも最近、PRX にがん移行性リガンドである葉酸を修飾すると、がん細胞表面の葉酸受容体の分布に応じて空間的ミスマッチを回避しながら多価相互作用可能なことを明らかにした⁶⁾。ここで PRX とは、複数の環状分子の空洞に直鎖状の軸分子を貫通させ、その両端を嵩高い官能基でキャップした超分子化合物であり、環状分子にはシクロデキストリン (CyD)、軸分子はポリエチレングリコール (PEG) が多用される。PRX 中の CyD は PEG 鎖に沿ってスライド・回転できるため、PRX 中の CyD にリガンド修飾を施すと、リガンドが可動となる。上述の葉酸修飾 PRX を薬物キャリアに修飾すると、可動性の葉酸を付与することができるため、がん細胞への親和性やがん移行性を向上させることができる。

上記背景の下、PRX に PBA を修飾すると、PBA が可動となる結果、がん細胞表面の SA の分布を認知して空間的ミスマッチを回避可能な、がん移行性ホウ素薬剤の開発が期待できる (図 1)。そこで本稿では、筆者らが最近開発したがん移行性超分子ホウ素薬剤について概説する⁷⁾。

2 結果と考察

2.1 フェニルボロン酸修飾ポリロタキサンの調製

はじめに、PBA 修飾 PRX を調製した。ここで、PBA 誘導体の一種である 4-カルボキシ-3-フルオロフェニルボロン酸 (FPBA) は分子内にフッ素有し、pKa が 7.5 と生理条件に近く、SA と結合しやすいことから、PRX に修飾する PBA として FPBA を選択した。まず、 α -CyD と両末端をアミノ化した PEG を水中で混合し、複数の α -CyD が PEG 鎖を包接したポリ擬ロタキサンを調製した。次に、ポリ擬ロタキサンの両端にアダマンタン酢酸を縮合させ、PRX を得た。PRX の溶解性を向上させるため、PRX に Propylene oxide を反応させ、ヒド

ロキシプロピル化 PRX (HP-PRX) を得た。HP-PRX に 1,2-Bis (2-aminoethoxy) ethane を反応させアミノ化した後、縮合剤でカルボキシ基を活性化させた FPBA を反応させ、FPBA 修飾 PRX (FPBA-PRX) を得た。なお、FPBA の可動性が低いコントロールとして、ヒドロキシプロピルセルロースに FPBA を修飾した FPBA-CEL も調製した (図 1)。

2.2 物理化学的性質

一般に、製剤の粒子径が 100 nm 以下で電荷的に中性である と、Enhanced permeation and retention effect (EPR 効果) によってがんに集積しやすいと言われている。そこで次に、FPBA-PRX および FPBA-CEL の粒子径および ζ -電位を測定した。FPBA-PRX および FPBA-CEL の粒子径はそれぞれ、約 15 nm および約 12 nm であった。また、両者の ζ -電位は、いずれも中性付近であることが示唆された。これらの結果から、FPBA-PRX および FPBA-CEL は、SA を標的としたアクティブターゲティングのみならず、EPR 効果を利用したパッシブターゲティングも期待できる物性である可能性が示唆された。

PBA はボロン酸を介して糖の 1,2-および 1,3-ジオールと可逆的に結合することが知られており、SA と相互作用することが報告されている。そこで次に、FPBA-PRX が SA と相互作用可能か検討するために、アリザリンレッド S (ARS) を用いて評価した。ARS は、フェニルボロン酸と特異的に結合することで蛍光を発する。実際、ARS に FPBA-PRX を添加することで強い蛍光が認められた。一方、競合阻害剤として SA を添加したところ、SA の添加濃度依存的に ARS 由来の蛍光強度が減少した。これらのことから、FPBA-PRX は SA と相互作用することが示唆された。

2.3 細胞内取り込み

SA は、細胞表面の糖鎖の非還元末端に存在し、正常細胞と比較してがん細胞に高発現していることが知られている。その発現量はがん種によって異なるものの、一般にがん細胞 1 個につき、約 $10^7 \sim 10^9$ 個といわれている。前項において、FPBA-PRX は SA と相互作用することが示唆されたため、SA を介してがん細胞選択的に取込まれることが期待できる。そこで次に、蛍光物質である Tetramethylrhodamine (TRITC) をラベル化した TRITC-FPBA-PRX および TRITC-FPBA-CEL を調製し、各種がん細胞および正常細胞に対する細胞内取り込みをフローサイトメトリーにより検討した。また、FPBA を修飾していない PRX (HP-PRX) に TRITC ラベル化した TRITC-HP-PRX も調製し、比較対照とした。

FPBA を修飾していない TRITC-HP-PRX は SA 高発現細胞である HeLa 細胞内にほとんど取り込まれず、リガ

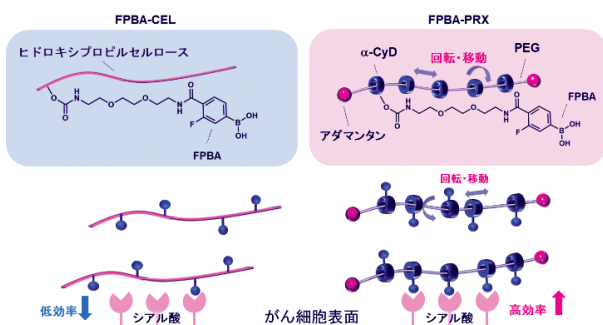


図 1 FPBA-CEL と FPBA-PRX のがん細胞認識機構

ンドが低可動性である TRITC-FPBA-CEL は一定の細胞内取り込みを示した。一方、TRITC-FPBA-PRX は TRITC-FPBA-CEL よりも効率よく、かつ濃度依存的に取り込まれることが示唆された。また、同じく SA 高発現細胞である Colon-26 細胞においても TRITC-FPBA-PRX は、TRITC-HP-PRX および TRITC-FPBA-CEL と比較して効率よく細胞内に取り込まれることが示唆された。これらの結果は、PRX に修飾した FPBA の動的特性が高効率な細胞内取り込みに重要であることを示唆する。

一方、SA の発現が低いとされるヒト正常腎細胞（HK2 細胞）に対する FPBA-PRX の細胞内取り込みを評価したところ、TRITC-FPBA-PRX は HK2 細胞にほとんど取り込まれず、HP-PRX とほぼ同程度の取込み量であることが示唆された。これらの結果より、TRITC-FPBA-PRX は、SA を高発現するがん細胞選択的に取り込まれることが示唆された。

2・4 体内動態

FPBA-PRX のがん集積性を明らかにするため、Colon-26 細胞を移植した担がんマウスの尾静脈内に TRITC-FPBA-PRX または TRITC-FPBA-CEL を単回投与後、腫瘍を回収し TRITC の蛍光強度を測定した。TRITC-FPBA-PRX は、投与 360 分後に投与量の約 15 % が腫瘍に集積し、最大値を示した。さらに TRITC-FPBA-PRX は、TRITC-FPBA-CEL と比較して高い腫瘍集積率を示した。FPBA-CEL も高分子で EPR 効果を示すことが予想され、さらに SA と多価相互作用できるが、FPBA-PRX が FPBA-CEL よりも高効率に腫瘍に集積したことは特筆すべき結果である。

次に、各種臓器への分布を確認したところ、TRITC-FPBA-PRX は静脈内投与 3 時間後には腫瘍に最も集積し、少なくとも投与 6 時間後までは他の臓器よりも腫瘍に集積することが示唆された。一方、TRITC-FPBA-CEL では一部腫瘍に集積するものの、主に肝臓、腎臓および脾臓に蓄積することが示唆された。一般に高分子ポリマーは、静脈内投与後、細網内皮系（RES）による貪食を受けることが知られている。FPBA-CEL は FPBA-PRX と比較して腫瘍選択性が低いため、RES による貪食を受け、時間依存的に肝臓や脾臓に蓄積したものと推察される。以上、FPBA-PRX は静脈内投与後、速やかに腫瘍へ移行し、SA を介してがん細胞内に取り込まれる可能性が示唆された。

2・5 ホウ素濃度および抗腫瘍活性

血中および腫瘍中のホウ素濃度を評価するため、Colon-26 細胞を移植した担がんマウスの頸部に FPBA-PRX を皮下投与し、ICP-AES によりホウ素濃度を測定した。本試験では、同じ 10B 濃度（35 ppm 10B）の

BPA および FPBA を対照として用いた。FPBA-PRX および FPBA については、投与 18 時間後にホウ素濃度を測定し、BPA は腫瘍ホウ素濃度がピークに達する 2 時間で測定した。その結果、血中ホウ素濃度は BPA 群と FPBA-PRX 群でおおむね同等であったが、FPBA-PRX 投与群の腫瘍ホウ素濃度は BPA 投与群よりも高く、FPBA-PRX 投与による効率的なホウ素集積が示唆された。

そこで次に、*in vivo* における抗腫瘍活性を評価するため、FPBA-PRX、BPA および FPBA を担がんマウスに皮下投与し、中性子線照射後の腫瘍サイズを測定した。その結果、FPBA-PRX は BPA および FPBA と比較して、顕著な抗腫瘍活性を示した。また、投与後の体重や血生化学検査値の変化はほとんど認められず、明らかな副作用は観察されなかった。以上の結果より、FPBA-PRX は優れたホウ素薬剤として可能性を有することが示唆された。

2・6 多重標的型 FPBA-PRX の構築

よりがん集積性に優れる FPBA-PRX の構築を企図して、1) FPBA-PRX の血中滞留性を向上させるとともに正常細胞や赤血球に発現するシアル酸との結合を抑制するカテコール修飾 PEG および 2) 葉酸受容体高発現がん細胞選択的に取り込まれる葉酸修飾 β -CyD (FA- β -CyD) の 2 種類のがん標的化素子を融合した複合型の FPBA-PRX を新規に調製した⁹⁾。

2・6・1 カテコール修飾 PEG

FPBA-PRX のがん集積性を改善する方法として、FPBA ががん細胞以外のシアル酸に結合することを防ぐ方法が考えられる。ここでボロン酸は、カテコールと可逆的なボロン酸エステルを形成し、この結合は低 pH で切断されることが知られている。したがって、FPBA-PRX にカテコール修飾 PEG を混合すると、FPBA とカテコールのボロン酸エステル形成により、正常細胞や赤血球などのシアル酸への結合を抑制可能なことが期待できる。また、FPBA-PRX の表面に PEG が修飾される結果、血中滞留性が向上し、EPR 効果により腫瘍集積性が向上することも期待できる。さらに、がん集積すると、がん組織の低 pH によってボロン酸エステルが切断され、FPBA-PRX 中の FPBA ががん細胞表面のシアル酸と結合できるようになり、がん細胞へ取り込まれることが期待できる。そこで、FPBA-PRX にカテコール修飾 PEG を組み合わせた多重標的型 FPBA-PRX を構築し、がん選択性の向上を企図した。その結果、FPBA-PRX 中の FPBA は、正常組織の pH 7.4 においてカテコール修飾 PEG と結合し、シアル酸高発現細胞に対する取り込みが低下したが、腫瘍微小環境の pH 6.5 においてカテコール修飾 PEG が解離し、細胞内取り込みが回復した。

2・6・2 葉酸修飾 β -シクロデキストリン

FPBA-PRX のがん選択性を更に向上させるため、FPBA のみならず、新たながん選択的リガンドを修飾し、二重リガンド化する方法も有用であると考えられる。これまで当研究室では、 β -CyD にがん標的リガンドである葉酸を七つ導入した FA- β -CyD を開発し、葉酸受容体高発現がん細胞選択的にドキソルビシンなどの抗がん剤を送達可能なことを報告した⁸⁾。ここで、FPBA-PRX のエンドキャップ分子であるアダマンタンは、ホスト-ゲスト相互作用を介して、 β -CyD と強固な複合体を形成することが知られている。したがって、FPBA-PRX と FA- β -CyD を混合すると、アダマンタンと β -CyD の相互作用により、FPBA-PRX の末端に葉酸を修飾可能なことが期待できる。そこで、FPBA-PRX に FA- β -CyD を組み合わせた多重標的型 FPBA-PRX を構築し、*in vitro* で評価した。その結果、FA- β -CyD は、FPBA-PRX の両末端に存在するアダマンタンと相互作用可能なことが示唆された。また、FPBA-PRX/FA- β -CyD は、FPBA-PRX 単独よりも高効率にがん細胞内に取り込まれた。

以上の結果より、カテコール修飾 PEG および FA- β -CyD は、FPBA-RRX のがん選択性を向上させるがん標的化素子として可能性を有することが示唆された。

謝辞 本研究を行うに際して懇篤なる御指導と御協力を賜りました、松本孔貴先生、竹内 春氏、菅原 裕氏、中家亜美氏、鈴木 実先生、櫻井英幸先生、小野寺理沙子先生、田原春 徹先生に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) T. Nomoto, Y. Inoue, Y. Yao, M. Suzuki, K. Kanamori, H. Takemoto, M. Matsui, K. Tomoda, N. Nishiyama : *Sci. Adv.*, **6**, eaaz1722 (2020).
- 2) K. Maruyama, O. Ishida, S. Kasaoka, T. Takizawa, N. Utoguchi, A. Shinohara, M. Chiba, H. Kobayashi, M. Eriguchi, H. Yanagie : *J. Control. Release*, **98**, 195 (2004).
- 3) Q. Tang, J. Liu, Y. Jiang, M. Zhang, L. Mao, M. Wang : *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **11**, 46585 (2019).

- 4) S. Deshayes, H. Cabral, T. Ishii, Y. Miura, S. Kobayashi, T. Yamashita, A. Matsumoto, Y. Miyahara, N. Nishiyama, K. Kataoka : *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 15501 (2013).
- 5) T. Ooya, M. Eguchi, N. Yui : *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13016 (2003).
- 6) A. F. A. Mohammed, M. H. Othman, T. Taharabaru, K. M. Elamin, K. Ito, M. Inoue, M. El-Badry, K. I. Saleh, R. Onodera, K. Motoyama, T. Higashi : *ACS Macro Lett.*, **11**, 1225 (2022).
- 7) Y. Matsumoto, H. Arase, H. Ishiki, H. Takeuchi, Y. Sugawara, T. Taharabaru, R. Onodera, M. Suzuki, A. Nakaie, H. Sakurai, K. Motoyama, T. Higashi : *Carbohydr. Polym.*, **354**, 123343 (2025).
- 8) A. Okamatsu, K. Motoyama, R. Onodera, T. Higashi, T. Koshigoe, Y. Shimada, K. Hattori, T. Takeuchi, H. Arima : *Bioconjug. Chem.*, **24**, 724 (2013).
- 9) H. Ishiki, T. Taharabaru, H. Arase, Y. Matsumoto, R. Onodera, K. Motoyama, T. Higashi : *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **105**, 569 (2025).



東 大志 (HIGASHI Taishi)

熊本大学大学院生命科学研究部 (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)。熊本大学大学院薬学教育部修了。博士 (薬学)。《現在の研究テーマ》超分子化学と薬学を融合した新規学術分野「超分子薬学」の創生。《主な著書》東 大志 : “シクロデキストリン超分子を基盤分子としたバイオ医薬品のための超利発型製剤技術・DDS 素材の開発、中分子創薬に向けた DDS 開発の新展開”, (シーエムシー出版), pp. 163-171 (2022)。《趣味》サ活, 旅行, お笑い鑑賞。

E-mail : higashit@kumamoto-u.ac.jp

荒瀬 春輝 (ARASE Haruki)

熊本大学 (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)。

伊敷 帆夏 (ISHIKI Kaho)

熊本大学 (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)。

本山 敬一 (MOTOYAMA Keiichi)

熊本大学 (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)。

組織切片を測定試料とする化学物質の組織内局所分析

興 石 一 郎

1 はじめに

組織中化学物質を分析する場合、組織を等張液等の分散媒中でホモジネートした懸濁液を測定試料とするのが一般的である。この試料処理を経て得られる測定値は、化学物質が一定体積の組織中に均一に分布すると仮定した濃度ということになる。しかしながら、組織の微細構造は高度に不均一であり、実質細胞、非実質細胞、細胞外マトリックス成分、血管、血液、リンパ液等が、各組織の恒常性機能を十分に発揮し得るように局在している。組織中化学物質の生理機能と濃度との関連を明らかにするには、組織中の化学物質の微視的な局在に関する情報が欠かせない。この目的で組織切片を測定試料とする化学物質の局所分析法の開発が望まれる。本稿では、組織中化学物質の局所分析を行う上で直面する問題点を中心に解説する。

2 組織切片の調製

組織切片を調製するには組織を薄切する必要があるが、この際、組織を硬い固体として扱わなくてはならない。一般的には、低温下で凍結させる凍結切片法、および、パラフィン等の樹脂中に包埋して固める包埋法が汎用されている。凍結切片法は、薄切する機器としてクリオスタットが必須となる。一方、パラフィン包埋法では、室温での薄切が可能なマイクロトームが必須となる。測定する化学物質が組織内でどのように存在するかを考慮し、適切な手法を選択する必要がある。

2.1 凍結切片法

測定する化学物質が比較的低分子で組織中で可溶化状態で存在する場合、物質の拡散を防ぐ目的で速やかに凍結することが求められる。組織をクリオスタットの試料ステージ上で凍結させ、数 μm の厚みで薄切し、スライドガラスの上に貼り付ける。その後の処理に関しては、目的ごとに検討しなくてはならない。

2.2 パラフィン包埋法

パラフィン包埋法は、病理診断で最も汎用される薄切切片調製法である。パラフィン包埋法の問題点として、組織の微細構造を破壊することなくパラフィン（水に不

溶で室温で固体）を組織内に浸透させなくてはならない。そのため、“固定”という操作を施す。病理診断で汎用されるのはホルマリン固定である。ホルマリンにより、組織中タンパク質を架橋することで微細構造の破壊を防ぐことができる。次に、脂溶性のパラフィンを組織内に浸透させるためには、組織内の水を有機溶媒に置換しなくてはならない。この目的にはエタノール脱水法が用いられる。エタノール濃度を段階的に上げていったエタノール水溶液に順次組織を浸漬し、最終的に完全にエタノールに置換する。さらに、完全に脱水された組織中にパラフィンを浸透させるために、パラフィンの融点を超える温度下で、パラフィン含量を段階的に上げていったパラフィン—キシレン混液に浸漬する。最後に、包埋容器にパラフィンと組織を入れ、室温で放置し固めることで薄切操作が可能となる。ここで実験者が考慮しなくてはならないのは、パラフィン包埋法で得られたパラフィン切片中の化学物質が、摘出された組織中濃度・存在状態を維持しているか否かであるが、組織中で可溶化状態で存在する低分子化学物質の多くは消失すると考えるべきである。

3 組織片の種類と調製法

分析に供される組織がヒトの組織か、実験動物の組織かによって切片調製法の選択が限定される。臨床の分野で検査に供される組織としては、肝生検、腎生検、肺生検等の直径1~3 mm程度の試料、外科手術により摘出された臓器等である。生検試料は、迅速な診断が求められることから、一般に凍結切片法が汎用される。ただし、染色等の処置を施す場合には、スライドガラス上の薄切切片をアルコール等の有機溶剤に浸漬し、固定処置を施したのち、風乾するのが一般的である。一方、摘出臓器には、パラフィン包埋法が汎用される。摘出臓器はがん患者のがん組織であるケースが大半であり、良性・悪性の診断のみならず、がん細胞の遺伝子診断（遺伝子パネル検査）に供される。ここで注意すべき点は、病理組織検体の品質が遺伝子パネル検査の成功を左右することから、日本病理学会では「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規定」を公表している¹⁾。ここで規定している病理組織検体は、ホルマリン固定を施したパラフィン包埋ブロック（Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Block,

FFPE ブロック) であり、組織切片調製の自由度は低い。

3 組織切片の加工

組織化学的な手法では、その濃度の増減を相対的に評価する方法として、組織切片に特異染色を施し、デジタル化した画像から色彩の強度と染色部位のピクセル数を比較する手法が汎用される。しかしながら、論文投稿に際し、Reviewer から測定物質の増減を示す生化学分析データを求められる場合が少なくない。この場合、組織化学的なデータとの対比を行う上で、組織切片を試料として生化学分析を実施することが必要となる。

3.1 測定値の単位

従来、組織中の化学物質を測定する場合、単位としては組織の重量当たりの化学物質質量で表すのが一般的であった。組織の重量としては、湿重量または乾燥重量が用いられる。表現としては、〇〇 mol/g of wet weight (dry weight) あるいは〇〇 mg/g of wet weight (dry weight) 等である。しかしながら、組織切片を試料とする場合、単位の下分母は組織切片の面積と厚みから算出される容積である。すなわち、一定容積当たりの化学物質質量で表されることになる。例えば、薬物が薬理効果を発揮、あるいは副作用を発現するには、標的部位での濃度がある閾値を超えることが必要であることから、濃度の単位として容積当たりの化学物質質量で表すことは意義があるといえる。

3.2 測定物質の抽出

組織切片を染色し顕微鏡観察するには、処理工程において組織の構造が維持されなくてはならず、処理に先駆け、組織に固定処理を施すことが求められる。具体的にはホルマリン等の架橋剤により、組織を構成するタンパク質を架橋する。組織は細胞と細胞外マトリックス成分から構成されている。細胞外マトリックスの主たる役割は、物理的強度を維持することと漿液の流動性を維持することであり、前者はコラーゲンやエラスチン等の線維状タンパク質が、後者はヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、セラタン硫酸、ヘパラン硫酸等のグリコサミノグリカン/プロテオグリカン（浸透圧を高め膨潤度を高める作用がある）が担っている。結合組織は、これら物理的強度の高い網目構造体と膨潤度の高い網目構造体が相互に侵入しあった網目構造体（相互侵入型網目構造体）とみなすことができる。固定処理により、線維状タンパク質やプロテオグリカンのコアタンパク質が分子内・分子間架橋されることで、溶媒置換や洗浄等の処理による細胞外マトリックス微細構造の破壊を防ぐことが可能となる。しかしながら、生化学分析では組織切片からの化学物質の抽出操作が欠かせないため、固定操作により抽出効率が低下してしまう。そこで、組

織切片からの測定物質の抽出効率が低い場合には、コラゲナーゼやアクチナーゼ等のタンパク質分解酵素の利用が推奨される。筆者らは、組織線維化の生化学的指標として組織切片中コンドロイチン/デルマトン硫酸の生化学分析法を開発してきたが、この測定法の開発の過程で組織切片を純度の低いコラゲナーゼで前処理することでコンドロイチン/デルマトン硫酸の抽出効率が高まることを報告している^{2)~4)}。

3.3 ダイセクション

組織切片は直径数 mm の円形の生検試料から、比較的サイズの大きい摘出臓器まで多様である。とりわけ摘出臓器は、微視的に病変領域と非病変領域とに識別できる異質性 (Heterogeneity) を有しており、両領域の比較検討が可能となる。この場合、両領域を分け採ることが必要となる。顕微鏡観察下で測定領域を取り分けるマイクロダイセクション法が開発されてきた。古くは、マニピュレーターに微細針を装着した高周波振動装置を取り付け、組織切片の標的部位を削り取る装置が開発された。その後、組織切片を専用のスライドに張り付けたのち、顕微鏡観察下でレーザー光を照射し標的部位の輪郭を切除するレーザーマイクロダイセクション装置が開発され、現在医療の分野で汎用されている。

4 組織切片中の化学物質の分析の例

「組織切片中の化学物質の分析」法により測定が可能な化学物質としては、組織切片の調製の工程で組織から失われることなく、摘出された組織の状態を維持していらなくてはならない。

4.1 拡散性化学物質の測定例

薬物等の外因性化学物質は、生体に吸収されたのち、血流を介して体内に広く拡散する。組織内での存在状態は化学物質のサイズ、水溶性・脂溶性、電子の偏在、イオン性等により影響を受ける。このような拡散性の化学物質の組織局在を明らかにする目的で組織切片を測定試料とする場合、凍結切片法が用いられる。

凍結切片中の拡散性化学物質の測定法として、1990年代以降、質量分析計を用いたイメージング質量分析法⁵⁾⁶⁾の開発が試みられている。なかでも、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) と飛行時間型質量分析計 (TOF MS) を組み合わせた MALDI-TOF MS の開発が着目されている。凍結切片を MALDI-TOF MS に応用する上でのポイントは、減圧下で乾燥した組織切片にマトリックスの飽和溶液を添加する方法が鍵を握るが、メーカーによる専用のデバイスの開発が進められている。本法により取得される画像の分解能はレーザーのビーム径に依存し、数十 μm の分解能を得ることが可能である。MALDI-TOF MS はマトリックスの結晶

状態等の条件によりシグナル強度が変動しやすく絶対的な定量分析には不向きであるとの印象が強い。一方、イメージング技術を応用することにより、シグナル強度をレーザービームの照射部位間で相対比較することで組織内の局在を評価することが可能である。さらなる試みとして、内標準物質を用いることで定量分析を試みた報告も散見される⁷⁾⁸⁾。

4・2 生体内化学物質生成の痕跡分析

医療分野における組織中化学物質の測定意義として、化学物質が疾患の原因あるいは結果として生体内に存在しているか否かを明らかにし、治療を行う上での判断材料とすることである。この目的での測定対象として、組織蓄積性の化学物質が挙げられる。具体的には、タンパク質等の生体内高分子の官能基との化学的反応性に富み、その消失が生体内高分子の代謝速度に依存する化学物質が測定対象となる。

4・2・1 活性カルボニル生成の痕跡

痛み、発熱を伴う組織障害の多くは炎症反応を伴う。炎症局所では炎症性細胞が動員され、様々な液性因子を介してお互いを活性化し、中でも好中球等の貪食性の細胞は異物処理に際し、NADPH Oxidase やスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 等の酵素によりスーパーオキシドアニオンラジカル、過酸化水素等の活性酸素種を産生する。さらには、多価不飽和脂肪酸に酸素分子を

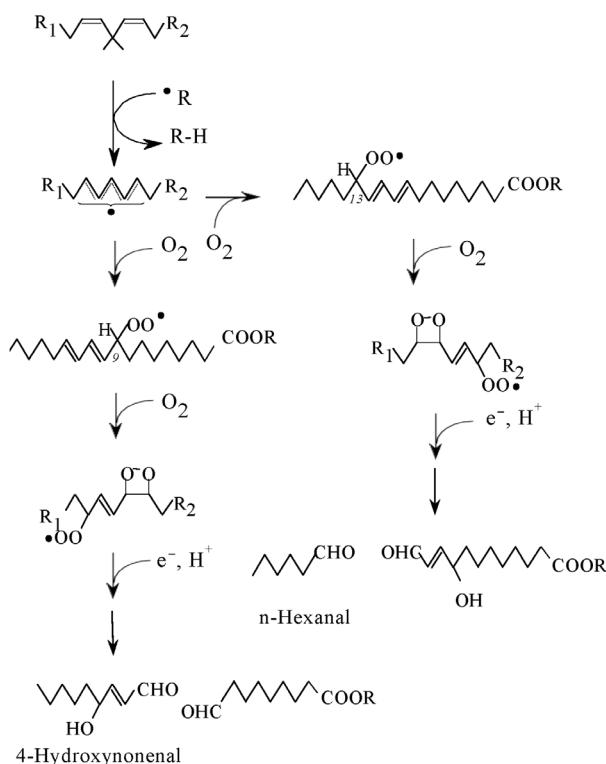


図1 リノール酸の脂質過酸化連鎖反応による活性カルボニル産生

導入する 12/15-リボキシゲナーゼの作用により脂質ヒドロパーオキシドが産生される。これらのパーオキシド構造 (-O-O-) は、細胞内にその存在が示唆されている遊離二価鉄イオン (labile ferrous ion) により 1 電子還元を受け、極めて反応性の高いヒドロキシルラジカルやアルコキシルラジカルを生成する。これらのラジカル種が膜成分中の多価不飽和脂肪酸に対してラジカル連鎖反応を惹起し、膜の物理的性質を大きく変動させる。近年、新たな細胞死として着目されるフェロトーシス細胞死は、このメカニズムによる細胞死である⁹⁾。フェロトーシス細胞死の特徴は、フェロトーシス誘導細胞内で活性カルボニルとして知られる 4-Hydroxynonenal (4-HNE) が産生され、細胞の構成タンパク質のヒスチジン残基と反応し、細胞内に蓄積することである⁹⁾。脂質過酸化連鎖反応によるリノール酸からの活性カルボニルの生成機序を図1に示す。4-HNE で翻訳後修飾された官能基を認識する抗体が市販されており、組織切片を試料とする免疫染色法が確立されている。

4・2・2 活性硫黄分子種生成の痕跡

近年、がん組織の内部に細菌が局在することが明らかにされている¹⁰⁾。なかでも、歯周病の原因細菌として知られる *Fusobacterium* 属 (嫌気性菌) は歯周ポケットより血流に侵入し、全身の組織の低酸素部位に生息することが報告されており、とりわけ大腸がんの発症との関連が着目されている¹¹⁾¹²⁾。*Fusobacterium nucleatum* は、活性硫黄分子種であるジメチルトリスルフィド (DMTS, CH₃-S-S-S-CH₃) を生成することが特徴である。DMTS は、キャベツ、ブロッコリー、ネギなどの血液サラサラ野菜に存在する生物活性物質で、フェロトーシスによる細胞死を抑制することが示されている¹³⁾。フェロトーシス誘導剤は、新しいメカニズムによる抗がん剤として着目され¹⁴⁾、日本国内では大学発のベンチャー企業が設立されている。*Fusobacterium nucleatum* ががん組織内に存在する場合、*Fusobacterium nucleatum* が DMTS を介してがん細胞のフェロトーシス細胞死を阻止する可能性が考えられる。よって、がん組織における *Fusobacterium nucleatum* の存在は治療の成否を左右する重要な要因になり得る。DMTS は生体内メルカプト化合物と極めて反応性が高く、とりわけ、タンパク質中システイン残基の翻訳後修飾に関与する。モデル反応系として、血漿タンパク質であるメルカプトアルブミン (Alb-SH) との反応について検討した結果、1 分子の DMTS から 2 分子のアルブミン-メルカプトメタン混合ジスルフィド (Alb-S-S-CH₃) と 1 分子のヒドロパースルフィド基 (Alb-SSH) が生成することが明らかになった¹⁵⁾。その反応機序として図2のような反応機序が推定される。

このような基礎研究から、組織における *Fusobacterium*

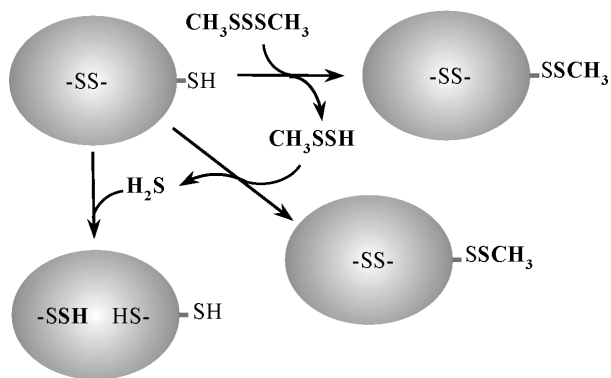


図2 タンパク質とジメチルトリスルフィドとの反応機序(仮説)

の局在を示す痕跡として、組織切片を用いた組織内構成タンパク質—メルカプトメタン混合ジスルフィドおよびヒドロパースルフィド基の測定が有効な手法になると期待される。筆者らは、試料をヨードアセトアミドで処理し、ヒドロパースルフィド基をアルキル化することでタンパク質—メルカプトアセトアミド混合ジスルフィドに変換したのち、Tris(2-carboxyethyl)phosphine で処理することで生じるメルカプトメタンおよびメルカプトアセトアミドを分離定量する方法について報告している¹⁵⁾。

5 組織切片中化学物質の測定の制限

組織切片を測定試料とする測定には数多くの制限がある。これは、組織の採取が侵襲的であるためである。とりわけ生検試料の採取には出血等のリスクを伴うものであり、患者の承諾・同意を得なくてはならない。また、外科的手術の際に得られる摘出臓器を試料とする場合であっても、ヒトを対象とする臨床試験では、実験者が所属する機関での倫理審査を受けねばならない。また、申請の主たる責任者は医師であることが求められる。得られた測定データは究極の個人情報である。臨床試験を実施する場合には、測定試料の匿名化を厳密に実施し、データの取り扱いには最善の注意を払わねばならない。さらに、申請書に記した測定以外の測定を実施することはできない。すなわち、患者の同意を得ることなく保存してある患者の組織切片を用いて、新たな測定法を開発する試みは困難である。

一方、実験動物の組織を試料とする場合、多くは動物の犠牲を伴う。動物実験を実施するには、測定者が所属する機関の動物実験倫理審査委員会に実施計画を申請して許可を得ることが必須である。近年、動物愛護の観点から、苦痛を伴う病態モデル作成のための動物実験の実施が制限されている。培養細胞を用いた代替法が確立されている場合は動物実験の実施は許可されない。

6 バリデーション

一般に、生体試料中の化学物質を定量する新たな方法

を開発する場合、定量法のバリデーションが必須となる。バリデーションを目的にヒトの組織を用いることは容易ではない。また、患者の組織を試料として扱う場合、病変領域と非病変領域で形態上に大きな違いがあり、両者間で化学物質の存在状態に違いがあることを想定しなくてはならない。バリデーションに供する組織試料として病態モデル動物の組織を用いることが一つの解決策であるが、ヒトと実験動物との種差についても検討しなくてはならない。分析法を開発する者にとって、測定データの信頼性を担保することが絶対的な使命であり、分析法ごとにバリデーションを実施するための計画を作成することが重要である。

7 おわりに

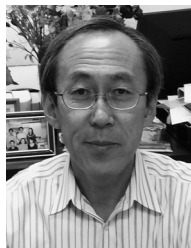
化学物質の組織内の局在を明らかにするために組織切片を用いた局所分析は有効な手法であるが、分析の成否のカギを握っているのは組織切片の調製法である。測定対象とする化学物質の組織内における存在状態を考慮し、固定から薄切に至るまで、最適な組織切片の調製法を確立することが求められる。

文 献

- 1) 一般社団法人日本病理学会：“ゲノム診療用病理組織検体取扱い規定（平成30年3月1日）”，https://pathology.or.jp/genome_med/pdf/textbook.pdf, (accessed 2025.06.17).
- 2) I. Koshiishi, E. Horikoshi, T. Imanari : *Anal. Biochem.*, **267**, 222 (1999).
- 3) I. Koshiishi, M. Takenouchi, T. Imanari : *Arch. Biochem. Biophys.*, **370**, 151 (1999).
- 4) I. Koshiishi, T. Hasegawa, T. Imanari : *Arch. Biochem. Biophys.*, **401**, 38 (1999).
- 5) 荏澤 崇, 工藤寿治, 佐藤貴弥 : 日本農薬学会誌, **42**, 216 (2017).
- 6) C. Maruyama, Y. Kimura, M. Setou : *Biophys. Rev.*, **1**, 131 (2009).
- 7) J. Bunch, M. R. Clench, D. S. Richards : *Rapid Commun. Mass. Spectrom.*, **18**, 3051 (2004).
- 8) T. Nakanishi, S. Takai, D. Jin, T. Takubo : *Mass Spectrometry*, **2**, 3013 (2013).
- 9) R. Shintoku, Y. Takigawa, K. Yamada, C. Kubota, Y. Yoshimoto, T. Takeuchi, I. Koshiishi, S. Torii : *Cancer Sci.*, **108**, 2187 (2017).
- 10) D. Nejman, I. Livyatan, G. Fuks : *et al.* (51 authors) : *Science*, **368**, 973 (2020).
- 11) A. D. Kostic, D. Gevers, C. S. Pedamallu, M. Michaud, F. Duke, A. M. Earl, A. I. Ojesina, J. Jung, A. J. Bass, J. Tabernero, J. Baselga, C. Liu, R. A. Shivdasani, S. Ogino, B. W. Birren, C. Huttenhower, W. S. Garrett, M. Meyerson : *Genome Res.*, **22**, 292 (2012).
- 12) M. Castellarin, R. L. Warren, J. D. Freeman, L. Dreolini, M. Krzywinski, J. Strauss, R. Barnes, P. Watson, E. Allen-Vercoe, R. A. Moore, R. A. Holt : *Genome Res.*, **22**, 299 (2012).
- 13) S. Nagai, M. Yoshida, Y. Takigawa, S. Torii, I. Koshiishi : *Food Chem.*, **343**, 128511 (2021).
- 14) S. J. Dixon, K. M. Lemberg, M. R. Lamprecht, R. Skouta, E. M. Zaitsev, C. E. Gleason, D. N. Patel, A. J. Bauer, A. M.

Cantley, W. S. Yang, B. Morrison 3rd, B. R. Stockwell : *Cell*, **149**, 1060 (2012).

- 15) I. Koshiishi, S. Nagai, Y. Yuzawa, Y. Takigawa : *Biol. Pharm. Bull.*, **47**, 318 (2024).



興石 一郎 (KOSHIISHI Ichiro)

群馬大学名誉教授 (〒371-8510 群馬県前橋市荒牧町 4 丁目 2 番地). 千葉大学大学院薬学研究科博士前期課程修了. 薬学博士・薬剤師. 《現在の研究テーマ》バラの根頭ガン腫病の発症を抑制する手法の開発. 《趣味》家庭菜園とガーデニング.

E-mail : Koshiishi_i@gunma-u.ac.jp

日本分析化学会の機関月刊誌『ぶんせき』の再録集 vol. 3 が出版されました！ 初学者必見！ 質量分析・同位体分析の基礎が詰まった 293 ページです.

本書は書籍化の第三弾として、「入門講座」から、質量分析・同位体分析の基礎となる記事、合計 42 本を再録しました. 『ぶんせき』では、分析化学の初学者から専門家まで幅広い会員に向けて、多くの有用な情報を提供し続けています. これまで掲載された記事には、分析化学諸分野の入門的な概説や分析操作の基礎といった、いつの時代でも必要となる手ほどきや現役の研究者・技術者の実体験など、分析のノウハウが詰まっています.

〈2003 年掲載 1 章 質量分析の基礎知識〉

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| 1. 総論 | 7. 無機材料の質量分析 |
| 2. 装置 | 8. 生体高分子の質量分析 |
| 3. 無機物質のイオン化法 | 9. 医学、薬学分野における質量分析法 |
| 4. 有機化合物のイオン化法 | 10. 食品分野における質量分析法 |
| 5. ハイフェネーテッド質量分析 I | 11. 薬毒物検査、鑑識分野における質量分析法 |
| 6. タンデムマスマスペクトロメトリー | 12. 環境化学分野における質量分析法 |

〈2009 年掲載 2 章 質量分析装置のためのイオン化法〉

- | | |
|-----------------------|---------------------|
| 1. 総論 | 7. レーザー脱離イオン化 |
| 2. GC/MS のためのイオン化法 | 8. イオン付着質量分析 |
| 3. エレクトロスプレーイオン化—原理編— | 9. リアルタイム直接質量分析 |
| 4. エレクトロスプレーイオン化—応用編— | 10. 誘導結合プラズマによるイオン化 |
| 5. 大気圧化学イオン化 | 11. スタティック SIMS |
| 6. 大気圧光イオン化 | 12. 次世代を担う新たなイオン化法 |

〈2002 年掲載 3 章 同位体比分析〉

- | | |
|------------------|------------------|
| 1. 同位体比の定義と標準 | 4. 同位体比を測るための分析法 |
| 2. 同位体比測定の精度と確度 | 5. 生元素の同位体比と環境化学 |
| 3. 同位体比を測るための前処理 | 6. 重元素の同位体比 |

〈2016 年掲載 4 章 精密同位体分析〉

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. 同位体分析の基本原理 | 8. 小型加速器質量分析装置の進歩と環境・地球化学研究への応用 |
| 2. 表面電離型質量分析計の原理 | 9. 二次イオン質量分析装置の原理 |
| 3. 表面電離型質量分析計の特性とその応用 | 10. 二次イオン質量分析計を用いた高精度局所同位体比分析手法の開発と応用 |
| 4. ICP 質量分析法による高精度同位体分析の測定原理 | 11. 精密同位体分析のための標準物質 |
| 5. マルチコレクター ICP 質量分析装置による金属安定同位体分析 | 12. 質量分析を用いた化合物同定における同位体情報の活用 |
| 6. 加速器質量分析装置の原理 | |
| 7. 加速器質量分析の応用 | |

なお『ぶんせき』掲載時から古いものでは 20 年が経過しており、執筆者の所属も含め現在の状況とは異なる内容を含む記事もありますが、『ぶんせき』掲載年を明記することで再録にともなう本文改稿を割愛しました. これらの点については、執筆者および読者の方々にご了承いただきたく、お願い申し上げます.

疾患関連細胞外小胞の分類と解析技術

森田 那奈架, 岡 本 葵, 竹内 啓 晃

1 はじめに

近年、細胞外小胞（extracellular vesicles, EVs）は生体内における細胞間情報伝達や疾患発症機構において極めて重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。特に、がん、感染症、神経変性疾患、自己免疫疾患など多様な疾患において、EVsを介した病態形成の促進または抑制が報告されている。また、EVsはその構造の安定性や放出由来細胞の状態を反映するため、バイオマーカーとしての利活用が注目を集めている。一方で、EVsの種類や構造が複雑かつ多様であるため、正確な分類・同定・定量が依然として課題であり、それらの解析手法の整備と技術革新が求められている。

本稿では、EVsの分類と疾患関連性、さらにEVs解析における最新技術について解説するとともに、我々の研究室で行っている *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 由来のEVsの解析と臨床応用の可能性についても紹介する。これらの知見を通じて、EVs解析が新たな分析化学手法の一端を担い、異分野融合型の研究推進に貢献しうる可能性について考察したい。

2 EVs とは

EVsとは、「細胞から放出され、脂質二重層で区切られ、それ自体では複製できない（すなわち、機能的な核を持たない）粒子」である。国際細胞外小胞学会（ISEV）が発表したEVs研究の国際的なガイドライン（Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles 2023：MISEV2023）によるとEVsは、エンドソーム由来の「エクソソーム（30～150 nm）」、細胞膜から直接出芽して放出される「マイクロベシクル（100～1000 nm）」、アポトーシス時に細胞が崩壊して放出される「アポトーシス小体（500～2000 nm）」があり、サイズや形成経路に基づきサブタイプに分類される（図1）¹⁾。しかしながら、これらEVsの性質や大きさはオーバーラップすることが多く厳密に区別することは困難であり、総称として細胞外小胞（extracellular vesicles, EVs）と呼び、その特性については分類名だけでなく「サイズ・マーカー・由来経路の情報」を併記することが推奨されている。

EVsは脂質二重膜により構成され、タンパク質、脂質、核酸（mRNA, miRNA など）を内包し、放出細胞の状態

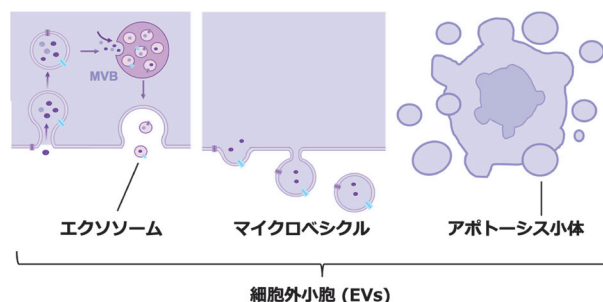


図1 細胞外小胞の分類と形成経路

エクソソーム：細胞内でエンドソームが多胞体（MVB, multi-vesicular bodies）へ成熟し、そこから小胞が形成・蓄積される。これらの小胞は細胞膜と融合して細胞外へと放出される（直径：約30～150 nm）。マイクロベシクル：細胞膜から直接出芽することで放出されるEVs。細胞膜のリモデリングを伴い、比較的大きな小胞（100～1000 nm）が形成される。アポトーシス小体：アポトーシス（細胞死）により細胞が断片化されて生じる小胞。断片には核成分や細胞小器官が含まれることがある。サイズは500～2000 nmと最大。これらを総称して細胞外小胞（EVs）と呼ぶ。

や機能を反映するため、リキッドバイオプシー（血液や尿などの体液から腫瘍や疾患に関する情報を非侵襲的に得る検査手法）の材料としても期待される。さらには、放出されたEVsは細胞間のコミュニケーションツールとして働くなど多様な細胞応答を引き起こすことが解明されつつあり、EVsに視座した疾患メカニズムの解明は新規治療戦略の構築と臨床応用への展開が期待される。

3 EVs と疾患

近年、エクソソームを含む細胞外小胞（EVs）は、がん、感染症、神経変性疾患などさまざまな疾患の病態形成に深く関与することが明らかとなっている²⁾³⁾。

3・1 腫瘍細胞由来細胞外小胞（tumor-derived extracellular vesicle, tEVs）

腫瘍細胞由来細胞外小胞（tumor-derived extracellular vesicle, tEVs）は、がんの増殖や転移促進、免疫逃避、薬剤耐性獲得に寄与する重要なコミュニケーションツールとして機能することが知られている²⁾。近年の研究では、tEVsは腫瘍免疫を抑制し腫瘍の進行を促進するのみではなく、逆に宿主免疫応答の活性化による腫瘍の退

縮にも関与する。例えば、転移性悪性黒色腫細胞由来の tEVs は、原発性悪性黒色腫細胞よりも免疫抑制リガンドである programmed death 1 ligand 1 (PD-L1) の発現が有意に高い⁴⁾。PD-L1 は、細胞傷害性 T 細胞上の programmed cell death 1 (PD-1) 受容体と相互作用し、T 細胞の機能低下を引き起こす。すなわち、原発性腫瘍細胞よりも転移性腫瘍細胞の方が腫瘍免疫抑制効果は強く生体への負荷は大きい。また、転移性悪性黒色腫細胞は腫瘍局所のみではなく血中から全身へ tEVs を運搬することにより、全身性の腫瘍免疫効果（細胞性免疫機能）を低下させることが示唆された。一方、化学療法で使用されるトポイカンや放射線照射を受けた乳がん細胞から放出された tEVs 内には二本鎖 DNA が含まれており、cGAS/STING 経路を介して樹状細胞を活性化し、I 型インターフェロン産生を増加させることで抗腫瘍効果を増大させる⁵⁾⁶⁾。このように化学療法や放射線照射による細胞ストレスは腫瘍細胞の性質を変化させ、その影響は tEVs にも反映される可能性が指摘されている。tEV は腫瘍免疫誘導に重要な役割を担うが、tEVs が宿主に与える影響は単一ではないため、その特性と機能解析が進み、新たな分子標的治療への応用が注目される。

3.2 ウイルス感染細胞由来 EVs

ウイルス感染においても EVs の関与が報告されている。例えば C 型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus, HCV) 感染細胞からの EVs 放出を阻害すると HCV 複製が阻害される⁷⁾。この結果は HCV が伝搬および感染の手段として EVs を利用していることを示唆している。さらに、ウイルス感染細胞から放出される EVs にはウイルスのマイクロ RNA (miRNA) が含まれている。例えば HIV-1 ウイルス感染細胞由来の EVs には trans-activation response element (TAR) miRNA が含まれ、この TAR miRNA は感染細胞のアポトーシスを抑制することで持続感染を成立させ、AIDS 病態形成に寄与すると報告されている⁸⁾。EVs はウイルス感染のみならず、感染細胞の維持および感染拡大にも影響している。

3.3 神経細胞由来 EVs

アルツハイマー病やパーキンソン病に代表される神経変性疾患においては、神経細胞由来 EVs がアミロイド β や α シヌクレインといった病態関連タンパク質を運搬し、疾患の進行を促進する役割を果たす⁹⁾。脳には血液脳関門 (blood-brain barrier, BBB) という循環血液と脳内間質液の間に物理的障壁が存在し、血液中の有害物質や病原体からの侵入を防いでいる。しかし、EVs はこの BBB を通過することができるため、病原体由来の EVs が種々の病原因子を伝播し神経変性を助長する報告もある¹⁰⁾。

このように多彩な疾患発症や病態形成に EVs の関与

が明らかとなり、血中 EVs の除去、EVs 放出の阻害、標的細胞における EVs 取り込みの阻害、EVs 内包成分の変化を理解した戦略的治療法の開発が進められている。EVs 解析は疾患の発症や病態メカニズムの解明に寄与するのみでなく、EVs に含まれる miRNA やタンパク質等の内包成分が、バイオマーカーとして注目されており、臨床応用にも期待される¹¹⁾。

4 *H. pylori* 由来細胞外小胞 (bEVs)

EVs は真核細胞だけではなく、原核細胞である細菌も EVs を産生放出することが確認され、グラム陰性細菌とグラム陽性細菌ではその EVs 産生機構が異なるが、総称して細菌由来 EVs (bacterial extracellular vesicles, bEVs) と呼ばれている (図 2)。bEVs は DNA, RNA, タンパク質等を内包し、病原性の伝播、細菌間のコミュニケーション、遺伝子の水平伝播による機能獲得、ストレスや薬剤耐性、免疫刺激などの作用機序が明らかにされてきた^{12)~14)}。bEVs は毒素や酵素、リボ多糖などの病原因子を運び、病原性発現に深くかかわる一方で、腸内細菌由来の bEVs は宿主細胞の恒常性維持にも寄与している¹⁵⁾。

近年、*H. pylori* 由来の bEVs も注目されている。*H. pylori* はグラム陰性らせん菌であり、*H. pylori* 感染は胃がんや胃潰瘍などの上部消化管疾患だけでなく、自己免疫疾患、代謝障害、心血管疾患、肝胆道疾患、神経変性疾患、皮膚疾患等の胃外疾患も引き起こす^{16)~20)}。

当研究室では、*H. pylori* 関連免疫性血小板減少症 (Immune thrombocytopenia, ITP) の発症メカニズムの一つとして、血小板に *H. pylori* 外膜タンパク質 Lpp20 が結合し、抗 Lpp20 抗体と免疫複合体を形成することで、血小板破壊および血小板数減少が誘導されることを報告した²¹⁾。さらに、*H. pylori* 外膜タンパク質 Lpp20 が *H. pylori* 由来 bEVs に発現していることを世界で初めて明らかにし、*H. pylori* 外膜タンパク質 Lpp20 の胃外輸送に *H. pylori* 由来 bEVs が関与する可能性を見いだした²²⁾。興味深いことに、この研究では 7 つの異なる地域 (日本、米国、欧州、オセアニア地域を含む) から分離

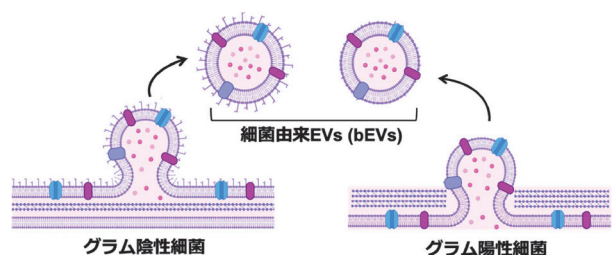


図 2 細菌由来 EVs

グラム陰性細菌とグラム陽性細菌では表層構造が異なるが、両者から放出された EVs は総称して細菌由来 EVs (bacterial extracellular vesicles, bEVs) と呼ぶ。

された *H. pylori* 株すべてにおいて Lpp20 発現と bEVs 産生を認めたが、bEVs 中に Lpp20 が発現していたのは 5 株のみであった。実際に、各地域で *H. pylori* 関連 ITP の発症率が異なることや、同じ地域でも感染している *H. pylori* には株間の差がある²³⁾。さらに、同じ *H. pylori* 株でもストレスに暴露されると bEVs 内の Lpp20 発現レベルが変化することがわかっている（未発表データ）。ヒトは食事とともに様々な物質を摂取し、変化する胃内環境は *H. pylori* にとって多様なストレス暴露となり、そのことが *H. pylori* の生物学的多様性をもたらしていると推察される。したがって、各 *H. pylori* 感染患者の血中 bEVs 内 Lpp20 発現を確認することは *H. pylori* 関連 ITP の発症リスクを予測できるかもしれない。また、Lpp20 が血小板凝集・活性化を惹起することも判明し、それらを病態素地とする急性冠症候群などの関連性の解明に繋がるかもしれない。

そこで、Lpp20 保有野生株（HPK5 株）と *lpp20* 遺伝子破壊 HPK5 株（ Δ Lpp20 株）を使用して、Lpp20 発現 bEVs を表面プラズモン共鳴イメージング（SPRi）法で評価できるかを検討した。SPRi 法は金属薄膜上の電子振動が光と共鳴する現象（金属薄膜上表面プラズモン共鳴：SPR）をイメージング化して、同時に多点での解析をする手法であり、分子間の相互作用（例：抗原-抗体、リガンド-受容体等）をリアルタイムかつラベルフリーで観察することが可能である（図 3）。筆者らは、HORIBA 社と共同で、金属膜を持つチップに、抗 Lpp20 抗体または抗 Gro EL（bEVs のマーカー）抗体を固定後、HPK5 株および Δ Lpp20 株由来の bEVs 浮遊液を測定した。図 4 に示すように、両株とも抗 GroEL 抗体で bEVs は検出されたが、 Δ Lpp20 株由来の bEVs は抗 Lpp20 抗

体と反応せず、HPK5 株のみで有意に検出された²²⁾。本手法は、bEVs 中の Lpp20 の検出を可能としており、ラベルフリーで簡易に検出できることから血中に移行した Lpp20 含有 bEVs のリキッドバイオプシーとしての活用が期待される。今後は、*H. pylori* 感染患者の血清中 bEVs 内 Lpp20 の検出法を開発することで、臨床应用到に繋げたい。

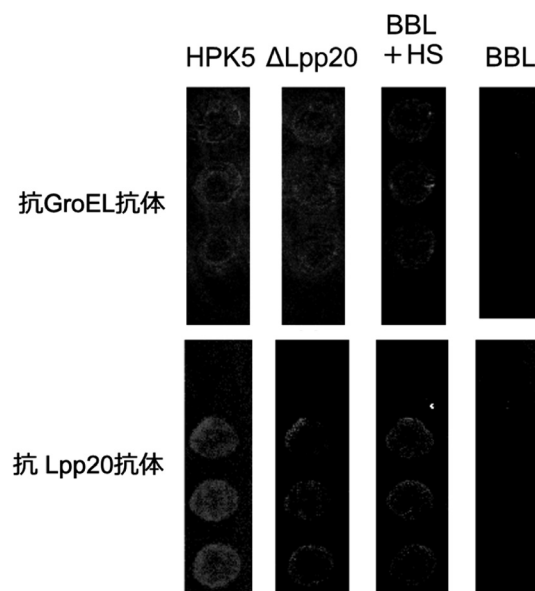


図 4 SPRi 法による bEVs の検出

各 *H. pylori*（HPK5 および Δ Lpp20 株）をブルセラブロス培地（BBL）+ウマ血清（HS）入りの条件下で培養後、bEVs 浮遊液を回収し、SPRi 法を実施した。上段：抗 Lpp20 抗体、下段：抗 GroEL 抗体の結果を示す。各抗体に結合すると反応スポットが明るくなる。HPK5、HPK5 株由来の bEV； Δ Lpp20、 Δ Lpp20 株由来の bEVs；BBL+HS および BBL、*H. pylori* の添加なし（negative control）（文献 22 を改変）。

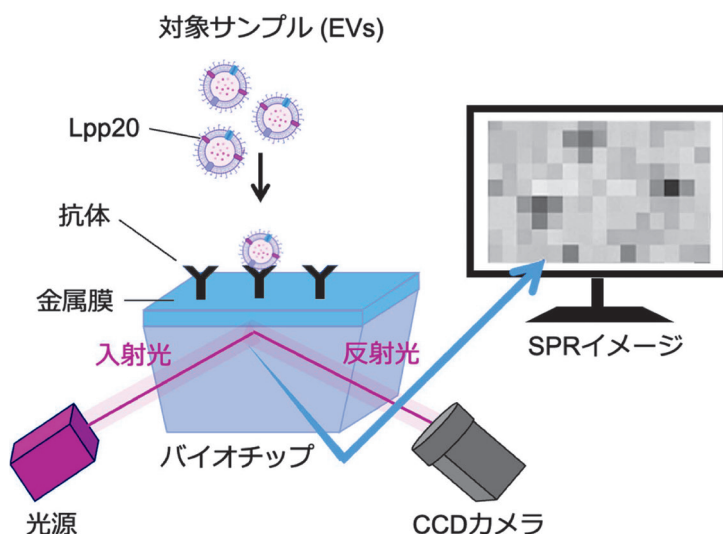


図 3 SPRi 法の模式図

金属薄膜（通常は金コーティング）上に抗体などのリガンドを固定し、試料中の目的分子（例：細胞外小胞やタンパク質）を結合させる。入射光は臨界角で金属膜に当たり、表面プラズモン共鳴（SPR）を引き起こし、結合の有無によって反射光の強度が変化する。反射光の変化をカメラでリアルタイムに検出し、複数のスポットの結合状態を同時に可視化・定量可能である。

5 EVs の解析

EVs 研究の発展には、正確な EVs 分離・解析法の確立が不可欠である。EVs の実験プロセスは、1) 対象サンプルの選定・前処理、2) EVs の回収・濃縮、3) EVs の確認、4) EVs の特徴把握、5) EVs の機能解析である。

5.1 対象サンプルの選定・前処理

まず、EVs の由来（細胞や体液等）を決定し、EVs 回収・濃縮の有無を検討する必要がある。また、対象サンプルによっては前処理が必要となる。特に培養細胞から EVs を回収する場合、通常細胞培養に使用されるウシ胎児血清（FBS）中にもウシ由来の EVs が存在するため、超遠心で EVs を回収すると、培養細胞由来の EVs 中にウシ由来 EVs が混在してしまう。そのため、ウシ由来 EVs 除去済みの FBS を使用する、または回収の 48 時間前に通常の培地から無血清培地に交換する等の前処理が必要となる。

5.2 EVs 回収・濃縮

回収・濃縮方法は複数あり、超遠心法、密度勾配遠心法、サイズ排除クロマトグラフィー、免疫沈降法などがある。近年は、免疫親和性ナノビーズを用いた迅速・高感度な EVs 分離技術も開発されており、目的に応じて選択することが重要である。回収の基本は超遠心法であるが、超遠心法の実施が困難の場合や特定のポピュレーションを採取したい場合などは市販のキットや試薬を含む EVs の回収方法も検討することが可能である。回収に用いるサンプル溶液量、サンプル数、EVs の精製度、コスト等を考慮して選択するが、まずは超遠心法での回収を念頭に置くのがスタンダードである。超遠心は通常の遠心とは異なり、100000g 以上の非常に強力な遠心力を使用するため、専用の超遠心機が必要になるだけでなく、サンプルを入れるチューブも超遠心専用のものを

使用しなければならない。通常、超遠心機は大型で設置スペースも確保する必要があるが、卓上型のコンパクトな超遠心機も存在する。ただし、一度に超遠心をかけることができるサンプル容量が異なるため、目的に合わせて選択することが求められる。

5.3 EVs 確認

次に、目的とした EVs が回収できているかを確認する作業が必要となるが、EVs は細胞と異なり目視や光学顕微鏡で観察することはできない。そのため、多くの論文では一度は電子顕微鏡にて EVs を観察し、その形状や大きさを示している。電子顕微鏡は個々の EVs 形態を高解像度で可視化できる一方で、電子顕微鏡は装置が高価でかつ操作も煩雑であり、広く汎用されている機器ではないため、EVs 研究介入の障壁となっている一面もある。同様に装置は必要となるが、ナノ粒子トラッキング（NTA）法や電気抵抗パルス（TRPS）法を利用することで粒子径・粒子数を手軽に測定することが可能である。NTA 法は高感度カメラで粒子の散乱光を検出し、粒子のブラウン運動を追跡することで、粒子径や粒子濃度を測定する方法である。TRPS 法はナノサイズの粒子が微小孔を通過する際の電気抵抗変化を利用してサイズ・濃度・電荷を解析する手法である。電子顕微鏡でも粒子サイズは確認可能だが、NTA 法は多数の粒子をリアルタイムで測定し、粒径分布の統計解析が可能である。当研究室では *H. pylori* 由来 EVs を電子顕微鏡および NTA 法で解析しており、そのサイズは約 100 nm であることが明らかとなった（図 5A, B）。NTA 法は EVs 回収の日差変動にも気が付くことができる点が電子顕微鏡よりも優れているが、検出された粒子がすべて EVs とは限らない点は留意する必要がある。また、これら装置も高価であり、外部発注に頼らざるを得ないのが現状である。EVs 研究において電子顕微鏡、NTA 法や TRPS 法による EVs 確認は欠かすことのできない工程である

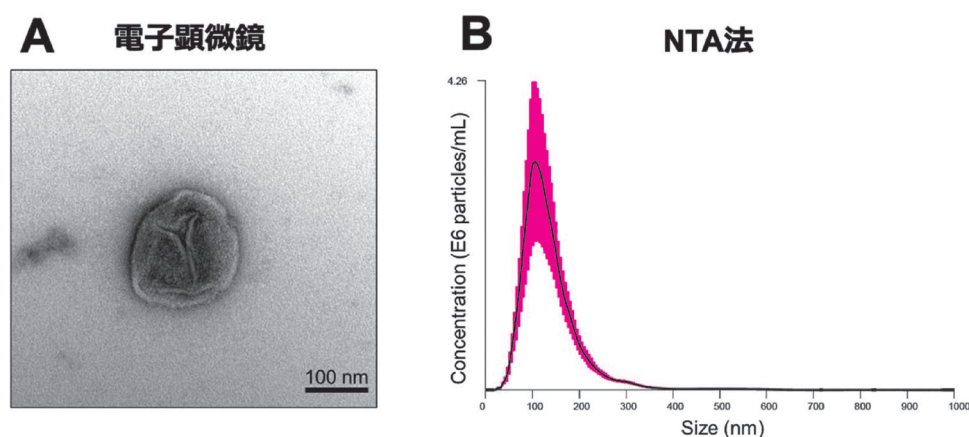


図 5 *H. pylori* 由来の bEVs

H. pylori (HPK5) 由来の bEVs を電子顕微鏡 (A) および NTA 法 (B) により確認した (文献 22 を改変)。

が、どの研究室にも装置があるわけではない。この観察が安価で簡易的にできるように技術開発がなされ、EVs研究が飛躍的に発展することに期待したい。

5・4 EVs 特徴把握

EVs は DNA, RNA, タンパク質等も含有しているため、EVs の特徴も把握しておきたい。特に、ストレスや培養環境により、EVs の粒子径・産生放出数のみではなく構成成分も変化することが知られているため、目的に合わせて評価する対象を選択する必要がある。

解析には、電子顕微鏡、NTA 法、TRPS 法に加えて、DNA や RNA の抽出後には PCR/RT-PCR 法や次世代シーケンス解析、タンパク質は目的の抗体を利用して検出するフローサイトメトリー・免疫プロット法・免疫沈降法および生体の分子情報を網羅的に解析するオミックス解析（プロテオーム・トランスクリプトームなど）が活用される。

5・5 EVs 機能解析

最後に、EVs の機能解析はバイオマーカー探索や EVs 検出法の開発目的では必須ではないが、EVs は細胞とのコミュニケーションツールとしても機能し、様々な細胞・臓器等に影響を与えることから、解析対象の EVs が生体へどのような影響を及ぼすかに焦点を当てた研究が進行している。例えば、*in vitro* 系として培養細胞との共培養で、EVs の細胞内取り込みや免疫応答などが評価されている。さらに、*in vivo* 系では実験マウスに蛍光ラベルした EVs を投与し生体内での EVs 動態を観察することが可能である。筆者らも、*H. pylori* 由来 bEVs を介した Lpp20 の生体に及ぼす影響について、胃がん細胞株との共培養やマウスを用いて評価しており、今後も引き続き機能解析を行い、疾患発症機序やその病態メカニズムの解明を目指している。

6 おわりに

EVs 研究は今や基礎・臨床を問わず多くの分野に波及しつつあり、その診断や治療標的としての利用価値は計り知れない。EVs の分離、検出、定量、構成因子の解析における分析化学的アプローチは、EVs 研究の発展を技術面から支える要であり、今後ますます重要性が高まると考えられる。

本稿で紹介したように、EVs の分類や機能に基づいた解析は、疾患の早期診断や新たな治療法の確立に資する可能性がある。特に、*H. pylori* 由来の bEV における病原性因子の検出と、その疾患関連性の解析は、新たな病態理解が進展するとして期待されている。また、SPRi 法などの先進的な分析技術の導入は、EVs 解析に新たな革新をもたらすものである。

EVs 解析は依然として課題が多い領域ではあるが、分

析化学と生物学・医学の融合が進むことで、今後さらなる技術革新と臨床応用の実現が期待される。研究者・技術者・臨床側が一体となって EVs 研究に取り組むことで、次世代の診断技術・治療戦略の確立へと繋がることを強く願う。

謝辞 本研究は JSPS 科研費 (24K10603)、日本ヘリコバクター学会基礎研究助成金 (23002) の支援を受けたものである。

文 献

- 1) J. Welsh, D. Goberdhan, L. O'Driscoll, E. Buzas, C. Blenkiron, B. Bussolati, H. Cai, D. Di Vizio, T. Driedonks, U. Erdbrügger, J. Falcon-Perez, Q. Fu, A. Hill, M. Lenassi, S. Lim, Mahoney, M. Mohanty S, A. Möller, R. Nieuwland, T. Ochiya, S. Sahoo, A. Torrecillas, L. Zheng, A. Zijlstra, S. Abuelreich, R. Bagabas, P. Bergese, E. Bridges, M. Bruciale, D. Burger, R. Carney, E. Cocucci, R. Crescitelli, E. Hanser, A. Harris, N. Haughey, A. Hendrix, A. Ivanov, T. Jovanovic-Talisman, N. Kruh-Garcia, V. Ku'ulei-Lyn Faustino, D. Kyburz, C. Lässer, K. Lennon, J. Lötvall, A. Maddox, E. Martens-Uzunova, R. Mizenko, L. Newman, A. Ridolfi, E. Rohde, T. Rojalin, A. Rowland, A. Saftics, U. Sandau, J. Saugstad, F. Shekari, S. Swift, D. Ter-Ovanesyan, J. Tosar, Z. Useckaite, F. Valle, Z. Varga, E. van der Pol, M. van Herwijnen, M. Wauben, A. Wehman, S. Williams, A. Zendrini, A. Zimmerman; MISEV Consortium; Théry C, Witwer KW : *J Extracell Vesicles*, **13**, e12404 (2024).
- 2) R. Kalluri, K. McAndrews : *Cell*, **186**, 1610 (2023).
- 3) D. Gonçalves, S. Pinto, F. Fernandes : *Pharmaceutics*, **15**, 1738 (2023).
- 4) G. Chen, A. Huang, W. Zhang, G. Zhang, M. Wu, W. Xu, Z. Yu, J. Yang, B. Wang, H. Sun, H. Xia, Q. Man, W. Zhong, L. Antelo, B. Wu, X. Xiong, X. Liu, L. Guan, T. Li, S. Liu, R. Yang, Y. Lu, L. Dong, S. McGettigan, R. Somasundaram, R. Radhakrishnan, G. Mills, Y. Lu, J. Kim, Y. Chen, H. Dong, Y. Zhao, G. Karakousis, T. Mitchell, L. Schuchter, M. Herlyn, E. Wherry, X. Xu, W. Guo : *Nature*, **560** (7718), 382 (2018).
- 5) Y. Kitai, T. Kawasaki, T. Sueyoshi, K. Kobiyama, K. Ishii, J. Zou, S. Akira, T. Matsuda, T. Kawai : *J Immunol.*, **198**, 1649 (2017).
- 6) J. Diamond, C. Vanpouille-Box, S. Spada, N. Rudqvist, J. Chapman, B. Ueberheide, K. Pilonis, Y. Sarfraz, S. Formenti, S. Demaria : *Cancer Immunol Res.*, **6**, 910 (2018).
- 7) Y. Aydin, A. Koksai, V. Reddy, D. Lin, H. Osman, Z. Heidari, S. Rhadhi, W. Wimley, M. Parsi, S. Dash : *Cells*, **10**, 984 (2021).
- 8) A. Narayanan, S. Iordanskiy, R. Das, R. Van Duyne, S. Santos, E. Jaworski, I. Guendel, G. Sampey, E. Dalby, M. Iglesias-Ussel, A. Popratiloff, R. Hakami, K. Kehn-Hall, M. Young, C. Subra, C. Gilbert, C. Bailey, F. Romerio, F. Kashanchi : *J Biol Chem.*, **288**, 20014 (2023).
- 9) A. Hill : *J Neurosci.*, **39**, 9269 (2019).
- 10) E. Palacios, L. Lobos-González, S. Guerrero, M. Kogan, B. Shao, J. Heinecke, A. Quest, L. Leyton, M. Valenzuela-Valderrama : *J Neuroinflammation.*, **20**, 66 (2023).
- 11) M. Kumar, S. Baba, H. Sadida, S. Marzooqi, J. Jerobin, F. Altemani, N. Algehainy, M. Alanazi, A. Abou-Samra, R. Kumar, A. Al-Shabeeb, M. Macha, R. Mir, A. Bhat : *Signal Transduct Target Ther.*, **9**, 27 (2024).
- 12) K. Park, J. Lee, S. Jang, S. Kim, M. Jang, J. Lötvall, Y. Kim, Y. Gho : *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **49**, 637 (2013).

- 13) L. Brown, J. Wolf, R. Prados-Rosales, A. Casadevall : *Nat Rev Microbiol.*, **13**, 620 (2015).
- 14) S. Kim, J. Seo, S. Park, A. Lee, J. Lee, J. Jung, J. Chun, J. Lazarte, J. Kim, J. Kim, J. Song, C. Franco, W. Zhang, M. Ha, S. Paek, M. Jung, T. Jung : *Sci Rep.*, **10**, 21066 (2020).
- 15) X. Wang, S. Lin, L. Wang, Z. Cao, M. Zhang, Y. Zhang, R. Liu, J. Liu : *Sci Adv.*, **9**, eade5079 (2023).
- 16) J. Warren, B. Marshall: *Lancet*, **1** (8336), 1273 (1983).
- 17) H. Takeuchi, A. Okamoto : *J Clin Med.*, **11**, 4822 (2022).
- 18) J. Ye, T. Feng, L. Su, J. Li, Y. Gong, X. Ma : *Helicobacter*, **8**, e13030 (2023).
- 19) F. Wang, Z. Yao, T. Jin, B. Mao, S. Shao, C. Shao : *Ageing Res Rev.*, **99**, 102399 (2024).
- 20) R. Pellicano, G. Ianaro, S. Fagoonee, C. Settanni, A. Gasbarrini : *Helicobacter*, **25** Suppl 1, e12741 (2020).
- 21) H. Takeuchi, J. Islam, A. Kaneko, A. Kimura, T. Shida, W. Oboshi, H. Katayama, T. Oishi, M. Fujieda, N. Morimoto : *Platelets*, **32** 1120 (2021).
- 22) A. Okamoto, T. Shibuta, N. Morita, R. Fujinuma, M. Shiraishi, R. Matsuda, M. Okada, S. Watanabe, T. Umemura, H. Takeuchi : *Microorganisms*, **13**, 753 (2025).
- 23) G. Frydman, N. Davis, P. Beck, J. Fox : *Helicobacter*, **20**, 239 (2015).



森田 那奈架 (MORITA Nanaka)

国際医療福祉大学成田保健医療学部医学検査学科 (〒286-8686 千葉県成田市公津の杜 4-3)。藤田医科大学保健学研究科博士後期課程修了。博士 (医療科学)。《現在の研究テーマ》*H. pylori* 由来の bEVs を介した免疫応答, CD8+ 制御性 T 細胞による免疫制御。《趣味》サウナ・銭湯, 相撲観戦。

E-mail : nmorita@iuhw.ac.jp



岡本 葵 (OKAMOTO Aoi)

国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究科保健医療学専攻臨床検査学分野博士後期課程在学 (〒286-8686 千葉県成田市公津の杜 4-3)。《現在の研究テーマ》*H. pylori* 由来 Lpp20 含有 bEVs の特性解析, *H. pylori* 関連胃外疾患発症機序の解明。《趣味》ハリネズミと遊ぶこと, 国内外への旅行, 映画鑑賞。



竹内 啓晃 (TAKEUCHI Hiroaki)

国際医療福祉大学成田保健医療学部医学検査学科 (〒286-8686 千葉県成田市公津の杜 4-3)。山口大学大学院医学研究科博士課程修了。医学博士。《現在の研究テーマ》ピロリ関連疾患の病態解析, 薬剤耐性菌の耐性化獲得機構の解明。《趣味》ゴルフ, 読書, 博物館鑑賞。

E-mail : htake@iuhw.ac.jp

原 稿 募 集

話題欄の原稿を募集しています

内容：読者に分析化学・分析技術及びその関連分野の話題を提供するもので、分析に関係ある技術、化合物、装置、公的な基準や標準に関すること、又それらに関連する提案、時評的な記事などを分かりやすく述べたもの。

但し、他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 広い読者層を対象とするので、用語、略語などは分かりやすく記述すること。2) 啓蒙的であること。3) 図表は適宜用いてもよい。4) 図表を含めて 4000 字以内 (原則として

図・表は 1 枚 500 字に換算) とする。

なお、執筆者自身の研究紹介の場とすることのないよう御留意ください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]

真菌の化学的分類法

佐藤 一朗, 村山 琮明

1 はじめに

真菌の化学的分類法には細菌と同じように DNA の GC 含量, キノンプロファイルや脂肪酸組成解析などがある。しかし, これらの手法の多くは新種記載などの特別な場合には菌種ごとに推奨される項目について実施する程度であり, 日常的な同定で実際に行われることはまれである。しかしながら, DNA の塩基配列を解析する手法は, いわゆる分子生物学的分類法と呼ばれ, 日常的に利用されている。さらに, マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) によって得られたリボソームタンパク質のマススペクトルをもとに菌種を同定する手法は, 近年利用頻度が上昇している化学分類法の一つとして挙げられる。そのため, 本稿では核酸増幅検査, DNA 塩基配列解析, *In situ* hybridization (ISH) 法などの DNA 解析手法と MALDI-TOF MS による同定の原理や応用例について紙面の許す限り概説したい。

2 核酸をベースにした分類法

医学の進歩にもかかわらず, 侵襲性真菌症は依然として診断上の難題である。2022 年に, 世界保健機関 (world health organization, WHO) は真菌感染症の病原体優先リスト¹⁾を発表し, 研究および公衆衛生分野における真菌感染症の重要性を示した。世界中で年間約 1300 万人が真菌に感染し, 約 150 万人が死亡している²⁾。真菌培養, 直接顕微鏡検査, 病理組織検査を含む従来の技術は, 深在性真菌症診断のためのゴールドスタンダードである。しかし, これらの手法には, 感度, 特異度や所要時間の点で限界がある。高い罹患率と死亡率を伴う真菌感染症の流行が増加しているため, 分子 (生物学的) アプローチの必要性が高まっている。特にポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction, PCR) は, 臨床検体から直接, 迅速かつ種特異的な同定を可能にする。本節では, 核酸ベースの分子生物学的アプローチを紹介する。

2・1 核酸増幅検査 (nucleic acid amplification test, NAAT)

広域または汎真菌 PCR アッセイは, 普遍的な真菌プライマーを用いて行う。rRNA 遺伝子 (rDNA) は, 真菌の種の同定に最も頻繁に使用される標的であり, マルチコピーで存在する。隠蔽種を含めた種の同定は治療選択を考える上で重要な情報である。属あるいは種レベルの同定には, 通常内部転写スパーサー 1 および 2 (ITS1 および ITS2) または 28S (26S) rDNA の 5' 末端側の D1/D2 領域といった可変領域を PCR で増幅し, DNA 塩基配列を決定する方法が用いられる。これらの系は, 血液, 新鮮組織, ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を含む様々な臨床検体から真菌病原体を確定的に同定するために利用されるようになってきている。表 1 に主な PCR の系を記した, また, 図 1 には rDNA 領域のプライマー位置を記す。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は, 少なくとも 4 種類のプライマーを必要とし, 60~65 °C の等温環境下で約 1 時間で増幅反応が完了する。特殊なサーマルサイクラーが不要で特異性が高く, 反応産物の白濁を見るだけで判定が可能であることから簡易迅速検査 (point of care testing, POCT) に適応されることが期待される。

Realtime 定量 PCR (qPCR) は, コンタミネーションの可能性を最小限に抑え, 種レベルの迅速な同定を可能にし, 真菌量に比例した定量サイクル (C_q) を生成するため, 陽性結果の重要性を解釈する際に有用である。欧米ではすでにキットが市販されている¹²⁾。

また近年, 高分解能メルト (high resolution melting, HRM) 曲線解析法も導入されている¹²⁾。HRM 法は, dsDNA に結合する蛍光色素を加えて第三世代 PCR ともいわれるデジタル PCR (dPCR) 装置を使用し, 温度を徐々に上昇させて二本鎖 PCR 産物を解離させ, そのパターンを解析することでわずか 1 塩基ペアの違いまで識別する方法である。従来のリアルタイム PCR 装置より, 精密な温度分解能で, DNA 試料を希釈 (分散) して万単位の蛍光データポイントを収集できる装置であり, 蛍光色素も従来の SYBR[®] green などとは異なり, PCR 反応を阻害しない。dPCR を使った *Aspergillus* 属, *Candida* 属, あるいは *Pneumocystis jirovecii* の検出の報告

表 1 真菌症診断において一般的に用いられる PCR の系

標的真菌 (属)	標的遺伝子	プライマー配列	参考文献 (増幅産物のサイズ)
汎真菌	ITS	ITS-1 ; 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG (or) ITS-5 ; 5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG ITS-4 ; 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC	White, 1990 ³⁾ (ca. 600bp)
酵母	28S (26S) D1/D2	NL-1 ; 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGA NL-4 ; 5'-TTGGTCCGTGTTTCAAGACG	Kurzman, 1997 ⁴⁾ (ca. 620 bp)
<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Scedosporium</i>	β -tubulin	Bt2a ; 5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC Bt2b ; 5'-ACCCTCAGTGTAAGTACCCCTTGGC	Glass, 1995 ⁵⁾ (ca. 415 bp)
<i>Cryptococcus</i>	IGS	ITS5 ; GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG NL4 ; GGTCGGTGTTCAGACGG IGS1F ; ATCCTTTGCAGACGACTTGA IGS1R ; GTGATCAGTGCATTGCATGA	病原体検出マニュアル 播種性クリプトコックス症 国立感染症研究所 ⁶⁾ (ca. 645 bp, ca. 850 bp) Sugita, 2001 ⁷⁾
<i>Mucorales</i>	18S rDNA	ZM1 ; ATTACCATGAGCAAATCAGA ZM2 ; TCCGTCAATTCCTTTAAGTTTC ZM3 ; CAATCCAAGAATTCACCTCTAG	Rickerts, 2006 ⁸⁾ (ZM1-ZM2 ; ca. 407~408 bp) (ZM1-ZM3 ; ca. 176~177 bp)
<i>Trichosporon</i>	IGS	26SF ; 5'-ATCCTTTGCAGACGACTTGA 5SR ; 5'-AGCTTGACTTCGCAGATCGG	Sugita, 2002 ⁹⁾ (ca. 200~700 bp)
<i>Fusarium</i>	Elongation Factor 1 α	EF-1 ; 5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC EF-2 ; 5'-GGARGTACCAGTSATCATG	O'Donnell, 2009 ¹⁰⁾ (ca. 717 bp)
皮膚糸状菌	ITS (modified)	LR1 ; 5'-GGTTGGTTTCTTTTCCT SR6R ; 5'-AAGTAAAGTCGTAACAAGG	Blanz, 2000 ¹¹⁾ (ca. 630 bp)

ITS, Internal transcribed spacer ; IGS, intergenic spacer



図 1 rDNA 遺伝子領域の PCR プライマー位置

ITS, internal transcribed spacer ; IGS, intergenic spacer

がある¹²⁾。

特定の短い DNA 塩基配列を DNA バーコードと名付け、種の識別に用いる手法があるが、ITS 領域は真菌のバーコード配列としても最も有望な配列であることが、consortium for the barcode of life (CBOL) の真菌ワーキンググループから発表されている¹³⁾。ITS のデータベースは UNITE¹⁴⁾が充実している¹⁵⁾。しかし、真菌種によっては、ITS 領域の PCR の成功率が低い真菌もある上、種内でのコピー間で変異があり、結果がばらつくこともある¹⁶⁾。

菌種レベルでの同定には、タンパク質をコードしている遺伝子領域の遺伝子解析が有用である。タンパク質をコードしている遺伝子はシングルコピーが多く、そのエクソン部分は変異が少ないためである。使用される遺伝子としては、RNA ポリメラーゼの最大サブユニット (RPB1) と第 2 サブユニット (RPB2)¹⁷⁾、翻訳伸長因子

1 α (*Tef-1 α*)¹⁸⁾、カルモデュリン (*CaM*)¹⁹⁾、 β -チューブリン (*Tub2/BenA*)²⁰⁾ 遺伝子が、真菌の系統関係を推定するために最も一般的に使用されている。特に *Penicillium* 属には *Tub2/BenA* が有用であり、*CaM* も使用される。*Aspergillus* 属には、*Tub2/BenA* および *RPB2* が使用される。また、ミニ染色体維持タンパク質遺伝子 (MCM7) は LSU 遺伝子と併用することで、子嚢菌類の同定に有効である²¹⁾。

2・2 DNA 塩基配列解析

次世代シーケンシング (next generation sequence, NGS) は、一度に大量の DNA 塩基配列を決定する技術で、ハイスループットシーケンス (HTS) ともいわれる。全ゲノムシーケンス (WGS) が容易に手に入り、技術を利用しやすくなったことにより、たとえば抗真菌薬耐性、宿主内進化 (変異)、アウトブレイクに関する

疫学的調査など、従来得られなかった解析結果が報告されるようになった。ゲノムデータは、JGI Joint Genome Institute²²⁾などで公開されている。また、メタゲノムNGS (mNGS) は、患者の直接検体から直接ほぼすべての病原体を特定でき、従来であれば見逃されていた深在性真菌症の診断が可能となってきた²³⁾。しかし、臨床検査室でのNGSやmNGS技術の使用には大きな障壁が残っている。より広範な導入にはプロセス全体の最適化、標準化、検証およびコストの削減が必要である。

2・3 *In situ* hybridization (ISH) 法

PCR法は極めて感度の高い手法であるが、FFPE組織などでは、ホルマリン固定により1) DNAにニック(切れ目)が入る、2) DNAにタンパク質が架橋(クロスリンク)する、3) 塩基の脱アミノ化などにより分子の技術が難しくなる。ISH法は、PCR法と同様に非培養法であるが、PCR法と最も異なる点は、核酸の精製(抽出)が不要という点である。精製により、核酸はさらにニックが入り、ダメージが大きくなる。ISH法はニックが入っても、プローブがニックを覆って結合すれば、検出可能である。この現象に対して「scaffolding(足場形成)」という用語が用いられることもある。アメリカ食品医薬品局(Food and Drug Administration, FDA)では2005年に自動FISHシステムのClass IIでのガイダンス²⁴⁾を発表しており、本システムの診断などでの応用を促している。日本では核酸をベースにした真菌の診断法は認可されていない。体外診断用として米国のFDAに承認されている*C. albicans* PNA FISHFlow法²⁵⁾を紹介する。この方法は、細胞の固定とハイブリダイゼーションを同時に行うユニークな溶液ISHで、フローサイトメトリーで検出され、臨床酵母分離株の正確な同定を1時間で可能にした。この検査の臨床応用は、病院の大幅なコスト削減につながった。なお、病原真菌の研究レベルでのISH法の系は既報²⁶⁾²⁷⁾で発表したもので、ここでは言及しない。

3 MALDI-TOF MSによる分類

3・1 原理

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計(matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)による同定は近年広く利用されつつある微生物同定法である。MALDIはレーザー光を吸収する有機低分子(マトリックス)と試料(菌体、タンパク質など)の混合物を作り、パルス状のレーザーを照射することで試料のイオン化を行う技術であり、TOF MSは加速させた荷電粒子の飛行時間を計測することにより対象の質量を測定する分析法で、二つを合わせることで、イオン化したタンパク質の質量を測定することができる²⁸⁾。これによ

て得られた微生物に特異的なタンパク質のマスマスペクトルパターンを比較することにより、菌種などの同定が可能となっている。本法が微生物同定に用いられるようになったのが2004年、臨床検査機器として認可されたのが2011年とされている²⁹⁾。2023年に米国微生物学会が発刊するClinical Microbiology Procedures Handbookが7年ぶりに改版され、第5版として出版された。その中には第4版にはなかったMALDI-TOF MSのセクションがおおよそ60ページにわたり加えられており、MALDI-TOF MSが微生物同定機器として普及しつつあることを示している。使用法としては、菌体を釣菌し、菌種によっては前処理が必要であるが、ターゲットプレートに菌体を塗布し、マトリックスを追加後に乾燥させて測定を行う。得られたスペクトルは自動でライブラリとマッチングされ、菌種が同定される。例えば、病原性酵母である*Cryptococcus neoformans sensu lato*と*C. gattii sensu lato*の判別は培養法ではCGB(canavanine-glycine-bromothymol blue)培地で数日かけて判別していた³⁰⁾。それが、2011年にRealtime PCRで特異的に検出するプライマープローブセットが開発されたことにより数時間に短縮され³¹⁾、現在はMALDI-TOF MSを使用することによって数十分での同定が可能になっている。試薬代もRealtime PCRは数千円に対し、MALDI-TOF MSは数百円である。この迅速性と低コスト性が普及の一因となっていると推察される。

真菌の同定には、細菌とは細胞壁の組成が異なるなどの要因からエタノールやギ酸を用いた抽出処置が必要になる場合がある。さらに糸状菌では、菌糸、分生子、孢子などの状態に応じて細胞に含まれる代謝物の組成が異なるため、スペクトルに変化が生じ検査結果の再現性を低下させる原因となっている。それを解消するために均一な状態の菌体が必要であり、そのために、回転培養により小さなマリモのような菌糸塊にするのが検査室において技師の負担になっている。その負担を軽減する方法として、Mycelium Transfer (MyT)法が提案されている(図2)³²⁾。MyT法による判定は手軽にできるため、検査技師から好意的な評価を得られたことが報告されている³³⁾。したがって、糸状菌の同定にはまずMyT法やギ酸オンプレート法³¹⁾を試みて、同定scoreが低い場合に従来の回転培養およびエタノールギ酸抽出法³¹⁾で補完すると省力化につながると考えられる。また、試料調製の際にMBT FASTTM シャトルを使用すると、マトリックスの乾燥速度が上昇し、ワークフローの標準化が図れることが報告されている³⁴⁾。

3・2 データベースの充実化

国内で販売されている真菌が同定できる機種はMALDI Biotyper[®](ブルカー・ジャパン)とVITEK[®]-MS(バイオメリュー・ジャパン)の2機種である。MALDI

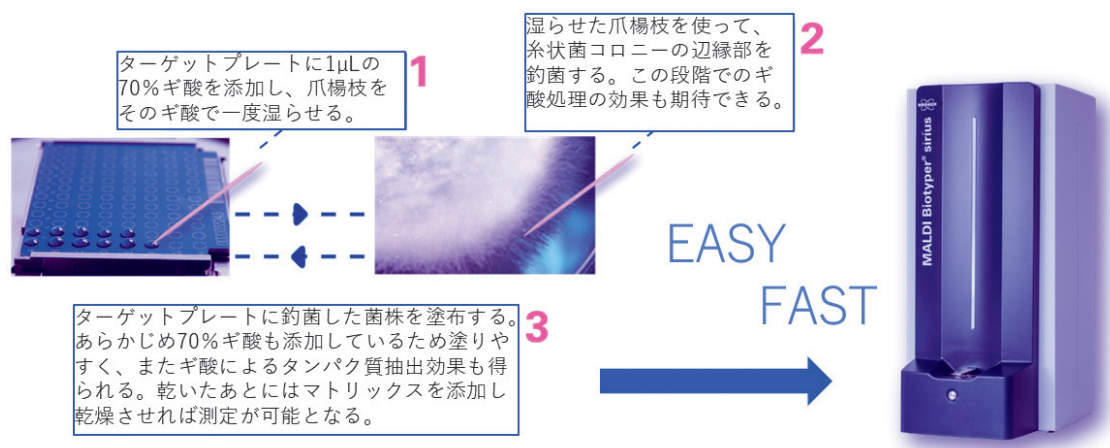


図2 MALDI-TOF MSによる簡易迅速真菌同定（MyT）法の手順
ブルカー・ジャパン(株)から許諾を得て掲載

Biotyper[®] のデータベースは一般細菌（酵母を含む）を同定するための MBT Compass Library（BDAL データベース）、抗酸菌用の MBT Mycobacteria Library、糸状菌用の MBT Filamentous Fungi Library に分かれているため真菌の登録数の推移を把握しづらいが、バージョンが上がるごとにスペクトルパターンの登録数が増え、同定の精度が上がり、同定可能な菌種が充実する傾向がある（表2）。

また近年、真菌は分類基準の更新や二重命名の廃止などの影響を受け、学名が変更されているものがある。前述の *C. neoformans* は *C. deneoformans* と *C. neoformans* の2種に、*C. gattii* は *C. deuterogattii*、*C. decagattii*、*C. bacillisporus*、*C. gattii*、*C. tetragattii* の5種に細分類されている。この7種のうち、*C. deneoformans* と *C. neoformans*

はそれぞれ独立した種として登録されているが、*C. gattii* complex は *C. gattii* しか登録されていないため、細分化された菌種がどのように同定されるのかは明らかではない。*Aspergillus* 属も近縁種が多く、代表種と隠蔽種とよばれる近縁種が Section とよばれる分類群としてまとめられている。これらの Section も代表種は登録されているが、隠蔽種は登録されていないことがある³³⁾。糸状菌の登録種数は10年でおおよそ2倍に増えており（表3）、今後もデータベースの充実化が継続されれば多様な菌種の同定に対応できるようになることが期待できる。

また、MALDI Biotyper[®] の上位機種である MALDI Biotyper[®] sirius では、従来のポジティブイオンモードにネガティブイオンモードが追加されている。これにより

表2 MALDI Biotyper[®] の各種データベースにおける登録数の推移

	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
RN Launch	June	April	February	April	April	November	July	April	November
BDAL (一般細菌, 酵母含)	DB-5989 (ver.5)	DB-6903 (ver.6)	DB-7311 (ver.7)	DB-7854 (ver.8)	ver.9	ver.10	ver.11	ver.12 (ver.2022)	ver.13 (ver.2023)
MSPs	5989	6903	7311	7854	8468	9607	10833	11897	12438
Species	2371	2461	2509	2747	2969	3239	3893	4274	4320
RN Launch	May	March	April	—	April	—	Aug	—	—
Myco (抗酸菌)	ver.3	ver.4	DB-912 (ver.5)	—	DB-952 (ver.6)	—	ver.7	—	—
MSPs	853	880	912	—	952	—	1069	—	—
Species	149	159	164	—	178	—	182	—	—
RN Launch	June	—	—	April	March	—	Aug	May	May
Fungi (糸状菌)	ver.1	—	—	ver.2	ver.3	—	ver.4	ver.5 (ver.2022)	ver.7 (ver.2023)
MSPs	364	—	—	468	577	—	856	779	1021
Species	110	—	—	152	180	—	247	222	225

RN, Release Notes ; BDAL, Bruker Daltonics ; MSP, Main Spectrum Projection = Reference Spectrum

表3 *Aspergillus* 属菌のライブラリー登録状況

Section	Species	MBT Filamentous Fungi Library 2023	Section	Species	MBT Filamentous Fungi Library 2023
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	registered	Flavi	<i>A. flavus</i>	registered
	<i>A. felis</i>	unregistered		<i>A. alliaceus</i>	unregistered
	<i>A. fischeri</i>	unregistered	Terrei	<i>A. terreus</i>	registered
	<i>A. fumigatiaffinis</i>	unregistered		<i>A. carneus</i>	registered
	<i>A. fumisynnematus</i>	unregistered	Usti	<i>A. calidoustus</i>	registered
	<i>A. hiratsukae</i>	unregistered		<i>A. insuetus</i>	unregistered
	<i>A. lacinosus</i>	unregistered		<i>A. keveii</i>	unregistered
	<i>A. lentulus</i>	registered	Nidulantes	<i>A. nidulans</i>	registered
	<i>A. novofumigatus</i>	unregistered		<i>A. quadrilineatus</i>	unregistered
	<i>A. parafelis</i>	unregistered	Circumidati	<i>A. ochraceus</i>	registered
	<i>A. pseudofelis</i>	unregistered		<i>A. sclerotiorum</i>	registered
	<i>A. pseudoviridinutans</i>	unregistered		<i>A. steynii</i>	unregistered
	<i>A. udagawae</i>	unregistered		<i>A. tanneri</i>	unregistered
				<i>A. westerdijkiae</i>	registered
Nigri	<i>A. niger</i>	registered	Versicolores	<i>A. versicolor</i>	registered
	<i>A. acidus</i>	unregistered		<i>A. sydowii</i>	registered
	<i>A. awamori</i>	unregistered		<i>A. tennesseensis</i>	unregistered
	<i>A. tubingensis</i>	unregistered			
	<i>A. sydowii</i>	registered			
	<i>A. tennesseensis</i>	unregistered			

脂質の測定が可能になるため、タンパク質のマスペクトルだけでは同定が困難だった菌種の同定が可能になることが期待される³⁵⁾。

3・3 MALDI-TOF MS による抗真菌薬感受性試験

抗真菌薬感受性試験はおもに微量液体希釈法で行われ、熟練者の目視に判定が委ねられている。そのため、誰でも測定値を得られる判定法の一つとして MALDI-TOF MS の活用が期待されている。MALDI-TOF MS による抗真菌薬感受性試験には大きく分けて二つの方法があり、一つは異なる濃度の抗真菌薬に暴露された真菌株の代謝産物の変化をマスペクトルから比較する方法である。抗真菌薬を添加して培養すると代謝が影響を受けるため、マスペクトルにもそれが現れる。段階希釈した抗真菌薬を添加して培養し、それぞれのスペクトルを比較すると、スペクトルの変化が起こる最小薬剤濃度 (minimal profile change concentration, MPCC) が得られる。この MPCC と微量液体希釈法による最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) の比較では、*C. albicans* の fluconazole 感受性試験において相関が得られており³⁶⁾、以降複数の菌種にて同様の報告がある。もう一つは細菌用に開発された MBT ASTRA (antibiotic susceptibility test rapid assay) を酵母用に改良したものである。MBT ASTRA とは抗生物質非存在下または存在下で同一の株を培養し、得られたスペクトルから増殖速度を比較し、薬剤耐性を評価する方法であ

る³⁷⁾。どちらの方法も開発途上であるが、これまで数日必要だった感受性試験が最短では株が分離された当日に結果が得られる場合もあるため、適切な治療方針を短時間で決めるための一助となる有用な測定法である。

4 おわりに

MALDI-TOF MS は、そのアップグレードされたデータベースにより、スペクトルプロファイルの生成を通じて、種レベルまで正確に同定するための効果的な手法であり、コストも低い。しかし、MALDI-TOF MS を含む表現型分析法には、培養での増殖という前提条件が必要であり、所要時間の長期化が考えられる。非培養系の分子診断は、培養の結果が得られないか、あるいは培養の結果がばらつく場合、あるいは重複感染症例で、同定のために真菌を純粋な形で分離することが困難な場合に有用である。臨床的・微生物学的には疑いがないにもかかわらず、特異的な診断検査を行わなければ、稀少な病原体が見逃される可能性がある場合に、分子生物学的手段で従来診断されなかった病原体の同定に寄与する可能性があるという利点がある。TOF-MS 検査は本邦で認可されているものの、分子生物学的検査は、まだ認可されておらず、各施設の臨床検査部あるいは一部の研究機関に依頼して行うしかない現状である。真菌症に限ったことではないが、複数の補助診断があるが、いずれも単独でゴールドスタンダード検査に取って代わるには不十分であり、リスクのある患者を最適に管理するためには、宿

主の背景や X 線写真の特徴などと組み合わせてより信頼のおける総合診断が望まれる。

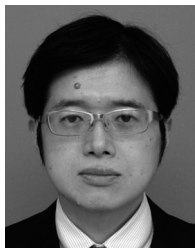
謝辞 本論文を執筆するにあたり AMED の課題番号 24fk0108700s0101 の支援を受けた。

利益相反 佐藤一朗は、本稿作成にあたりブルカージャパン株式会社からデータおよび情報の提供を受けた。

村山琮明は、本論文に関して、開示すべき利益相反関連事項はない。

文 献

- 1) World Health Organization: WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action (2022), <<https://www.who.int/publications/item/9789240060241>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 2) F. Bongomin, S. Gago, R. O. Oladele, D. W. Denning : *J Fungi (Basel)*, **3**, 57 (2017).
- 3) T. J. White, T. Bruns, S. Lee, J. Taylor : “PCR Protocols : A Guide to Methods and Applications” Edited by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White, p.315, (1990), (Academic Press, New York).
- 4) C. P. Kurtzman, C. J. Robnett : *J Clin Microbiol*, **35**, 1216 (1997).
- 5) N. L. Glass, Donaldson, G. C. : *Applied and environmental microbiology*, **61**, 1323 (1995).
- 6) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 播種性クリプトコックス症 Ver.2 (2023), <<https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/manual.html>>, (accessed 2025. 6. 10)
- 7) T. Sugita, R. Ikeda, T. Shinoda : *Microbiol Immunol*, **45**, 757 (2001).
- 8) V. Rickerts, G. Just-Nubling, F. Konrad, J. Kern, E. Lambrecht, A. Bohme, V. Jacobi, R. Bialek : *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **25**, 8 (2006).
- 9) T. Sugita, M. Nakajima, R. Ikeda, T. Matsushima, T. Shinoda : *J Clin Microbiol*, **40**, 1826 (2002).
- 10) O'Donnell, C. Gueidan, S. Sink, P. R. Johnston, P. W. Crous, A. Glenn, R. Riley, N. C. Zitomer, P. Colyer, C. Waalwijk, T. Lee, A. Moretti, S. Kang, H. S. Kim, D. M. Geiser, J. H. Juba, R. P. Baayen, M. G. Cromey, S. Bithell, D. A. Sutton, K. Skovgaard, R. Ploetz, H. Corby Kistler, M. Elliott, M. Davis, B. A. Sarver : *Fungal Genet Biol*, **46**, 936 (2009).
- 11) P. Blanz, W. Buzina, G. Ginter, Y. Graser : *Mycoses*, **43 Suppl 1**, 11 (2000).
- 12) J. D. Jenks, P. L. White, S. E. Kidd, T. Goshia, S. I. Fraley, M. Hoenigl, G. R. Thompson 3rd : *Expert Rev Mol Diagn*, **23**, 1135 (2023).
- 13) WG 1.3 – Fungi : <<https://www.ibol.org/phase1/wg-1-3-fungi/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 14) UNITE : rDNA ITS based identification of Eukaryotes and their communication via DOIs. <<https://unite.ut.ee/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 15) K. Abarenkov, R. H. Nilsson, K. H. Larsson, A. F. S. Taylor, T. W. May, T. G. Froslev, J. Pawlowska, B. Lindahl, K. Poldmaa, C. Truong, D. Vu, T. Hosoya, T. Niskanen, T. Piirmann, F. Ivanov, A. Zirk, M. Peterson, T. E. Cheeke, Y. Ishigami, A. T. Jansson, T. S. Jeppesen, E. Kristiansson, V. Mikryukov, J. T. Miller, R. Oono, F. J. Ossandon, J. Pauperio, I. Saar, D. Schigel, A. Suija, L. Tedersoo, U. Koljalg : *Nucleic Acids Res*, **52**, D791 (2024).
- 16) C. L. Schoch, K. A. Seifert, S. Huhndorf, V. Robert, J. L. Spouge, C. A. Levesque, W. Chen, Fungal Barcoding Consortium, Fungal Barcoding Consortium Author List : *Proc Natl Acad Sci U S A*, **109**, 6241 (2012).
- 17) Y. J. Liu, B. D. Hall : *Proc Natl Acad Sci U S A*, **101**, 4507 (2004).
- 18) C. P. D'Alessandro, L. R. Jones, R. A. Humber, C. C. Lopez Lastra, D. R. Sosa-Gomez : *J Basic Microbiol*, **54 Suppl 1**, S21 (2014).
- 19) J. J. Silva, M. H. P. Fungaro, X. Wang, T. O. Larsen, J. C. Frisvad, M. H. Taniwaki, B. T. Imanaka : *J Fungi (Basel)*, **8** (2022).
- 20) K. O'Donnell, E. Cigelnik : *Mol Phylogenet Evol*, **7**, 103 (1997).
- 21) H. A. Raja, C. L. Schoch, V. P. Hustad, C. A. Shearer, A. N. Miller : *MycoKeys*, **1**, 63 (2011).
- 22) JGI Joint Genome Institute, <<https://jgi.doe.gov/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 23) N. E. Babady, C. Y. Chiu, A. Craney, D. C. Gaston, R. S. Hicklen, C. A. Hogan, T. M. John, A. G. Stewart : *Expert Rev Mol Diagn*, **1–14** (2024).
- 24) Services, U.S.D.o.H.a.H., Administration, F.a.D. and Health, C.f.D.a.R. : Automated Fluorescence in situ Hybridization (FISH) Enumeration Systems - Class II Special Controls Guidance for Industry and FDA Staff (2005).
- 25) 村山琮明：日本菌学会会報, **53**, 3 (2012).
- 26) S. Sadamoto, Y. Mitsui, Y. Nihonyanagi, K. Amemiya, Shinozaki, M., S. Y. Murayama, M. Abe, T. Umeyama, N. Tochigi, Y. Miyazaki, K. Shibuya : *J Fungi (Basel)*, **8**, 337 (2022).
- 27) J. Trnovsky, W. Merz, P. Della-Latta, F. Wu, M. C. Arendrup, H. Stender : *J Clin Microbiol*, **46**, 1537 (2008).
- 28) 川崎浩子 : *Microb. Resour. Syst.*, **35**, 60 (2019).
- 29) 小松 方 : 日本臨床微生物学雑誌, **26**, 79 (2016).
- 30) 山口英世 : “医真菌同定の手引き (第 5 版)”, p. 383 (2013), (栄研化学).
- 31) K. Satoh, M. Maeda, Y. Umeda, Y. Miyajima, K. Makimura : *Microbiol. Immunol.*, **55**, 454 (2011).
- 32) Bruker corporation : Filamentous Fungi Identification. <<https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/microbial-identification/filamentous-fungi-identification.html>>, (accessed 2025, 5, 20)
- 33) 佐藤一朗, 萩原繁広, 田村 俊, 榎村浩一 : 日本医真菌学雑誌, **66**, 45 (2025).
- 34) E. A. Idelevich, B. Nedow, M. Vollmer, K. Becker : *J. Clin. Microbiol.*, **61** e0021223 (2023). DOI: 10.1128/jcm.00212-23.
- 35) 藤永あずみ, 道家康平, 馬淵亮史 : 電気泳動, **68**, 59 (2024).
- 36) C. Marinach, A. Alanio, M. Palous, S. Kwasek, A. Fekkar, J. Y. Brossas, S. Brun, G. Snounou, C. Hennequin, D. Sanglard, A. Datry, J. L. Golmard, D. Mazier : *Proteomics*, **9**, 4627 (2009).
- 37) C. Lange, S. Schubert, J. Jung, M. Kostrzewa, K. Sparbier : *J. Clin. Microbiol.*, **52**, 4155 (2014).



佐藤 一郎 (SATO Kazuo)
帝京大学医療共通教育研究センター
(〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1).
日本大学大学院生物資源科学研究科博士後
期課程修了. 博士 (生物資源科学). 《趣
味》食べ歩き.

E-mail : satokazu@med.teikyo-u.ac.jp



村山 琮明 (MURAYAMA YAMAGATA Somay)
東邦大学医学部真菌感染病態解析・制御学
講座 (〒143-8541 東京都大田区大森西 5-
21-16). 千葉大学大学院薬学研究科総合
薬品科学専攻博士後期課程修了. 薬学博
士・薬剤師. 《現在の研究テーマ》病原真
菌の遺伝子診断. 《主な著書》“図解 微生
物学・感染症・化学療法”, (南山堂). 《趣
味》読書, 声楽, 折紙.

E-mail : somei.murayama@ext.toho-u.ac.jp



原稿募集

「技術紹介」の原稿を募集しています

対象：以下のような分析機器、分析手法に関する紹介・解説記事

1) 分析機器の特徴や性能および機器開発に関わる技術, 2) 分析手法の特徴および手法開発に関わる技術, 3) 分析機器および分析手法の応用例, 4) 分析に必要な試薬や水および雰囲気などに関する情報・解説, 5) 前処理や試料の取扱い等に関する情報・解説・注意事項, 6) その他, 分析機器の性能を十分に引き出すために有用な情

報など

新規性：本記事の内容に関しては、新規性は一切問いません。新規の装置や技術である必要はなく、既存の装置や技術に関わるもので構いません。また、社会的要求が高いテーマや関連技術については、データや知見の追加などにより繰り返し紹介していただいても構いません。

お問い合わせ先：

日本分析化学会『ぶんせき』編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]

光免疫療法の基礎と展開

小川 美香子

1 はじめに

がんの光治療法として、近赤外光免疫治療法 (near infrared photoimmuno therapy, NIR-PIT) が 2020 年 11 月に本邦において切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌を対象に、条件付き承認を受け薬価収載された。現在、国際共同第 III 相試験が継続中である。NIR-PIT では光に反応し細胞傷害性を示す薬剤を静脈投与後、腫瘍に 690 nm の光を照射することで治療を行う。現在本邦では 100 を超える施設でこの治療を受けることができる。

本稿では、近赤外光線免疫治療法 (NIR-PIT) の基礎的な原理について解説するとともに、臨床応用の現状について紹介する。

2 光の生体利用

2.1 光と分子の相互作用

光は電磁波であり、波長に応じてさまざまなエネルギーを持つ。分子は特定のエネルギー (波長) を持つ光を吸収することで、励起状態へと遷移し、その後、さまざまな化学的・物理的変化を引き起こす。一般的には、励起された分子は一重項となり、項間交差により励起三重項状態へと遷移する。励起一重項状態から基底状態へと遷移する際に電磁波 (光) を放出する場合、その光は蛍光と呼ばれる。励起三重項状態から基底状態へ緩和する際の電磁波はりん光と呼ばれる。この蛍光 (あるいはりん光) を利用したイメージング法が、培養細胞あるいはマウス等を用いた基礎実験に汎用されており、生命科学研究に欠かせない技術となっている。

また、一般に、励起一重項状態に比較し励起三重項状態の寿命は長く、分子に化学的変化が起こる際には、励起三重項を経由することが多い。光照射によって分子内の結合が切断され、活性化分子が放出されるケージド化合物においては、結合を切断するのに必要なエネルギーが高いほど有利であるため、通常は波長の短い光が用いられる。ケージド化合物も、現代の生命科学研究において欠かせない物質である。

また、励起三重項状態の分子は、三重項状態の酸素分子 (基底状態の酸素分子) と相互作用しやすく、これにより一重項酸素を発生する。光治療では、細胞殺傷効果

を発揮する手段として、従来より一重項酸素が利用されてきた。後述のとおり、NIR-PIT においても一重項酸素が発生する。しかし、筆者らは、後述のように、これ以外の細胞傷害メカニズムが重要な役割を果たしていると考えている。

2.2 光の生体透過性

可視光領域の波長の光は生体分子とも容易に相互作用し、吸収される。したがって我々の体は可視光を透過せず、生体は可視である。超短波長の硬 X 線領域の電磁波であれば、有機分子とは相互作用が小さいためレントゲンや X 線 CT によるイメージングが可能となる。また、波長が長い近赤外領域の波長の光も生体構成分子の電子遷移エネルギーと大きく合致しないため、ある程度生体を透過する。NIR-PIT で利用される 690 nm の光は赤色光と近赤外光の境界領域の光であり、ヒト生体においてもある程度の透過性を持つ。後述するように、深部組織の治療においては、光ファイバーを挿入することで標的部位への光照射が可能となる。

3 近赤外光免疫療法について

3.1 近赤外光免疫療法 (NIR-PIT) とは

光治療法として長い歴史を持つ光線力学療法 (photodynamic therapy, PDT) では、ポルフィリン骨格を有する薬剤が一般に用いられている。これらの薬剤は光照射により励起され、項間交差を経て励起三重項状態に遷移する。その後、三重項酸素との相互作用によって一重項酸素を発生させるか、あるいは電子移動反応により活性酸素種 (ラジカル) を生成する。この一重項酸素や活性酸素種が、細胞殺傷の原因となる。

NIR-PIT では、抗体と光感受性分子からなる複合体が薬剤として用いられる (図 1)¹⁾。現在、光感受性分子として、ケイ素フタロシアニン誘導体である IR700 が使用されている。抗体-IR700 複合体を静脈内投与し、標的とするがん細胞膜抗原に結合させた後、690 nm の光を照射することで治療効果を発揮する。後述するように、IR700 が光励起後に三重項状態へ移行し、そこから IR700 の構造変化を伴う光化学反応が進行することで殺細胞効果を示す。

これまでに、マウスでの基礎実験により HER2、

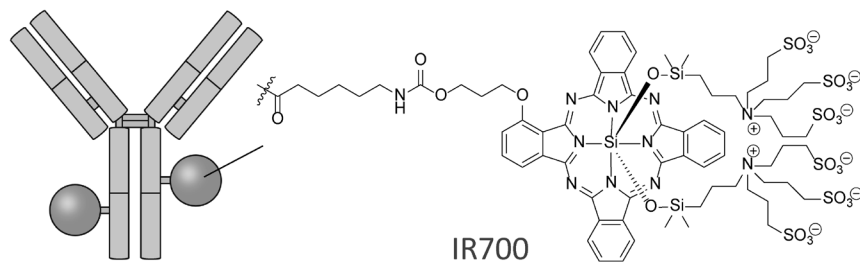


図1 光免疫治療（NIR-PIT）で使用する光感受性薬剤
がん細胞膜抗原に対する抗体と光反応性色素 IR700 を結合したものを静脈
投与し、1 日後に専用のレーザーシステムで腫瘍に 690 nm の光を照射する。

PSMA, CD44, CD47 などに対する抗体での検討が行われており、いずれも高い治療効果を示している^{2)~5)}。すなわち、抗原-抗体の組み合わせに対する制限はない。一方、抗原の発現量が十分でない場合には、治療効果は表れない。

3・2 NIR-PIT の細胞傷害メカニズム

3・2・1 NIR-PIT による細胞傷害の特徴

静脈投与された抗体-IR700 複合体は、腫瘍組織のがん細胞膜抗原に結合する。抗体の種類により違いはあるものの、一般に、時間経過とともに細胞膜に結合した抗体は細胞内に取り込まれる。一般的な抗体薬剤複合体（antibody drug conjugate, ADC）では、内在化により抗体と薬剤のリンカーが切断され薬剤が放出されることで効果を示す。

一方、NIR-PIT では、抗体-IR700 複合体が細胞内に内在化されなくても、細胞膜上に結合している状態であれば、光照射により細胞傷害性を示す¹⁾。また、4℃でも細胞死が起こることから、アポトーシス等の酵素反応カスケードを介した細胞死ではないことも示されている。さらに、3・1 に述べたように PDT では一重項酸素等の活性酸素が光照射により発生することで細胞傷害性を示すが、NIR-PIT では一重項酸素を消去しても細胞が傷害される。なお、培養細胞での観察では、光照射直後から細胞の膨張が認められる。

NIR-PIT では、光照射されたところだけでしか効果を示さず、万一 IR700 と抗体の結合が非特異的に切断さ

れたとしても毒性は生じない。すなわち、抗体による腫瘍へのターゲティングと局所的な光照射による標的への高い特異性が期待できる。

3・2・2 NIR-PIT の細胞膜傷害メカニズム

以上のことから、NIR-PIT は、細胞膜を起点とした細胞傷害性を有し、生化学的反応を介さず、物理的あるいは化学的な力により細胞死を誘導する治療法であること、また、活性酸素とは異なる新たな細胞傷害メカニズムに基づく治療法であることが分かる。

IR700 は中心原子の Si から上下に水溶性の軸配位子が伸びた構造を持つ。水溶性が高いため抗体に結合しても抗体の体内動態に大きく影響せず、抗原を発現する腫瘍へ効率的に集積する。我々は、この IR700 の軸配位子が光照射によって切断されることを見いだした⁶⁾（図2）。IR700 は配位子が切断されると平面性の高い π 電子が豊富で脂溶性が高いフタロシアニン環が露出する。すると、 π 電子相互作用と疎水性相互作用により分子が会合する。これにより、不溶性の凝集体が形成される。この不溶性の凝集体は IR700 が抗体に結合した状態でも形成されることが原子間力顕微鏡で確認されている。すなわち、抗体-IR700 複合体が細胞膜に結合した状態で、細胞膜抗原タンパクを巻き込んだ凝集体が形成されることで、細胞膜に物理的傷害を生じる。すると、この傷害部位から浸透圧差、イオン勾配により水やイオンが流入して細胞が膨張し、やがて細胞が破裂する。実際に顕微鏡下で光照射後に細胞が膨らみ破裂する様子が観察され

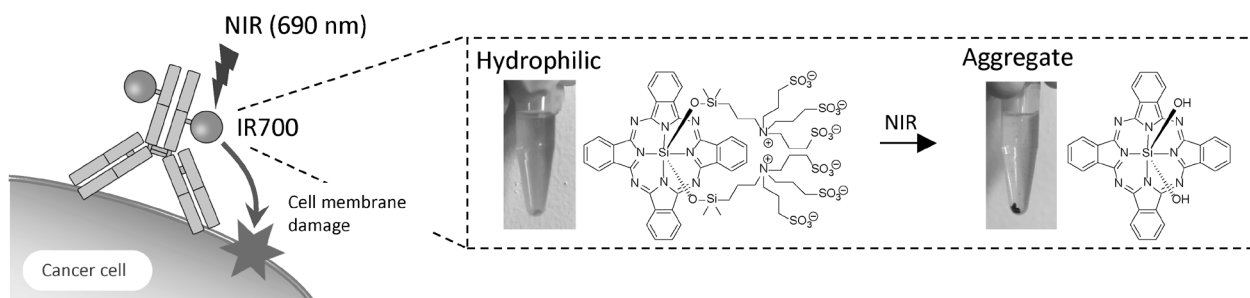


図2 光免疫治療（NIR-PIT）の細胞膜傷害メカニズム
光に反応し、細胞膜表面で薬剤が凝集体を形成することで膜障害を引き起こす。

ている⁷⁾。

また、IR700は蛍光を発するため、蛍光イメージングにより薬剤の分布を画像化することもできる。この蛍光は、軸配位子が切断され凝集すると消光する。したがって、細胞傷害につながる凝集体が形成されたかどうかは、蛍光の消光をモニタリングすることで判断することができる⁸⁾。

3・2・3 IR700の軸配位子切断メカニズム

筆者らは計算化学を利用することで、軸配位子切断メカニズムの解明に成功した⁹⁾。すなわち、光照射により励起三重項状態となったIR700は、酸素と反応することで基底状態へ遷移するが、低酸素環境では電子を受け取ることによりラジカルアニオン体となる。ラジカルアニオン体は水分子のプロトンを引き抜くことで軸配位子のSi-O結合が伸長し、結合が切断される(図3)。実際、軸配位子が光切断される際に、フタロシアニンのラジカルアニオンが生成することを吸収スペクトルの変化およびESR測定により観察している¹⁰⁾。このようなラジカルアニオン体を介する機構であるため、光子のエネルギーが小さい波長の長い光でも結合を切断することができる。また、プロトン化が律速段階となることが計算化学で判明したため、プロトン化を起こしやすくする軸配位子のデザインにより、より反応性の高い化合物の開発にも成功している¹¹⁾。

酸素と反応するか、ラジカルアニオンとなり軸が切断されるか、どちらのステップに進むかが重要である。今後、電子の受け取りやすさを調整するなどの分子設計が、より効果的な薬剤の開発において鍵となると考えられる。

3・2・4 内在化した薬剤による細胞傷害

3・2・2で述べたとおり、NIR-PITでは、光照射によって細胞膜に結合した抗体-IR700複合体による細胞膜傷害がおこる。しかしながら、抗体-IR700複合体もADC同様に時間経過とともに内在化される。臨床における光照射は、薬剤の点滴静注から1日後に行われる。この時点では、抗体-IR700複合体はなお循環血液中に一定量残存しており、がん細胞膜上には複合体が結合している状態にあるが、その一部はすでに細胞内へ内在化している可能性もある。内在化されリソソームに移行した複合体は、凝集体形成による膜障害は誘発しない。しかしながら、PDTで用いられる薬剤と同様に、光励起後に励起三重項状態へ遷移することで一重項酸素を発生するため、内在化した複合体においては、一重項酸素による細胞傷害性を示す可能性がある(図4)。

そこで、培養細胞を用いて、細胞膜のみに薬剤が存在する状態、細胞内にのみ存在する状態を作成し細胞傷害性を検討した¹²⁾。この結果、複合体が細胞内にのみ存在する状態であっても細胞生存率が低下したことから、内

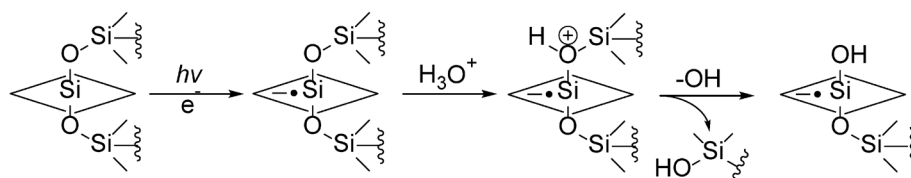


図3 軸配位子切断機構

光励起後に電子を受け取ることによりラジカルアニオン体となり、その後プロトン化されることでSi-O結合が伸長し切断される(両側とも切断される)

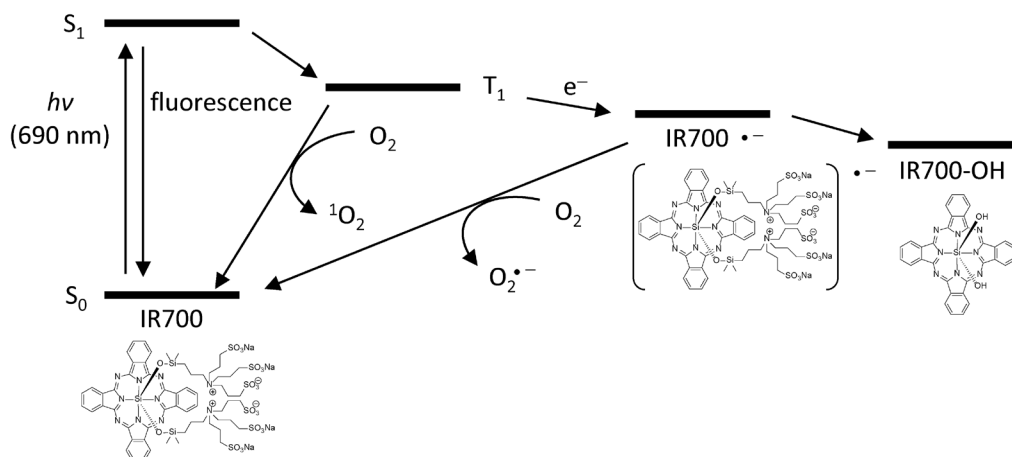


図4 光反応ダイアグラム

三重項状態で電子を受け取ることにより軸配位子が切断されるが、酸素と反応すれば活性酸素を生じる。

在化した薬剤も細胞傷害性に寄与することが示された。なお、この細胞死は一重項酸素を消去することで完全に抑制され、一重項酸素を介した傷害であることが明らかとなっている。しかし、その細胞傷害の程度は、細胞膜傷害を介したものより小さく、内在化した薬剤で細胞死を引き起こすには、より多くの光照射と薬剤量が必要であることが示された。すなわち、NIR-PITにおいては、細胞膜に結合した抗体-IR700 複合体が凝集体を形成することによる細胞障害が主要な作用機序であると考えている。

なお、抗体-IR700 複合体の凝集体形成による標的特有的な膜傷害とは異なり、一重項酸素はがん細胞に傷害を与えるだけでなく、がん細胞周囲の正常細胞に対して炎症を惹起するなど非特異的な傷害を引き起こす。実際、治療早期に炎症性浮腫が起こることがマウス実験でも認められている¹³⁾。ただし、筆者らは、アスコルビン酸を投与することによって、治療効果に影響を及ぼすことなく浮腫が抑えられることを報告している¹⁴⁾。アスコルビン酸は、活性酸素種を還元し不活化するとともに、電子供与によるラジカルアニオンの形成を促すことで、凝集体形成による治療効果に貢献すると考えられる。

3・3 NIR-PIT によるがん免疫の活性化

ここまで述べてきたように、NIR-PIT は特異的な膜タンパク抗原を標的とし、細胞膜傷害を起点とする細胞死を誘発する。このような細胞死では、殺傷された細胞から HMGB1 や ATP などのダメージ関連分子パターン (damage associated molecular patterns, DAMPs) が放出される。DAMPs は樹状細胞を活性化し成熟させる。成熟した樹状細胞は抗原タンパクを取り込み、分解されたペプチドを MHC 分子と結合した形で膜表面に提示する。抗原提示した樹状細胞はナイーブ T 細胞に抗原の情報を伝達し、T 細胞は細胞障害性 T 細胞、メモリー T 細胞へと分化する。すなわち、この細胞障害性 T 細胞はどのような抗原を持つ細胞を攻撃すべきか認識しているため、光が照射されなかったこと等により残存する、死んだ細胞と同じ膜抗原を持つがん細胞を攻撃することができる。このような細胞死は一般に免疫原性細胞死 (immunogenic cell death, ICD) と呼ばれ、NIR-PIT でも ICD が起こることを確認している⁷⁾。細胞傷害性 T 細胞によるがん細胞への攻撃を有効にする免疫チェックポイント阻害薬との併用により、光を照射した腫瘍のみならず、光が当たらなかった遠隔部位の腫瘍も縮小することが報告されている¹⁵⁾。

3・4 NIR-PIT の臨床について

3・4・1 認可されている治療法

2015 年に米国で切除不能な局所再発の頭頸部扁平上皮癌患者を対象とした第 I / II a 相試験が、2018 年には

国内第 I 相試験が実施された。本邦においては 2019 年、先駆け審査指定制度の対象製品に指定された。その後、条件付き早期承認を受け、2020 年 11 月に世界に先駆けて薬価収載された。現在、国際共同第 III 相試験が継続中である。

2024 年 6 月現在、認可されている薬剤は、抗ヒト上皮細胞増殖因子受容体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 抗体であるセツキシマブに IR700 を結合させた、セツキシマブ サロタロカンナトリウム (商品名: アキラルックス[®] 点滴静注 250 mg) である。また、光照射装置として BioBlade[®] レーザシステムが製造販売承認されている。なお、製造販売を行っている楽天メディカル社のホームページに記載のとおり、「本剤を用いた治療法についての講習を受け、当該治療法に関する十分な知識・経験のある医師のみによって用いられるよう、必要な措置を講じること」が定められている。また、BioBlade[®] レーザシステムの承認条件として、「切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌の診断及び治療に関する十分な知識・経験のある医師が、適応を遵守し、講習の受講等により、本品を用いた治療法に関する手技及び同療法に伴う合併症等に関する十分な知識を得た上で、本品が用いられるよう、関連学会と連携の上で必要な措置を講ずること」が定められている [https://hcp.rakuten-med.jp/certification/certification2/]。また、この他、施設要件、医師・歯科医師要件も定められている。詳細は上記ウェブページを参照されたい。現在、本邦では 100 施設以上で本治療が受けられる。また、3・2・2 で述べた IR700 の蛍光の消光を指標にした治療効果評価の試みも進められている。

なお、有害事象として、照射部位における浮腫、疼痛が報告されている。これらは、一重項酸素による炎症反応に起因するものと考えられる。現在、ステロイドや抗炎症剤投与による対策がとられているが、最適な照射法 (量) や 3・2・4 で述べたアスコルビン酸等の薬剤の投与についても、今後、検討する余地があるかもしれない。

3・4・2 臨床における光照射法

現在、臨床では、抗体-IR700 複合体 640 mg/m² (体表面積) を点滴静注し、静注終了 20~28 時間後に近赤外レーザー光を病巣部位に照射している。光照射法としては、表在性病変を照射するためのフロントアルディフューザーと、深在性病変のためのシリンドリカルディフューザーが開発されている。後者は、病変にカテーテルを挿入し、その中に光ファイバーを通して深部を照射する。大きな血管を避け腫瘍全体を照射するために X 線透視画像をガイドに挿入するなど、各施設で様々な工夫がされている。

4 おわりに

NIR-PITは、本邦において世界に先駆けて承認された新しいがん治療法である。現在は、EGFRを標的とする薬剤が頭頸部がんを対象に承認されているが、EGFRを発現する他の腫瘍にも適用可能であることから、さまざまながん種を対象とした臨床試験が進行している。また、抗体を変更することで、より多様ながん種への応用が可能となる。本治療法のさらなる適用拡大を期待したい。

文 献

- 1) M. Mitsunaga, M. Ogawa, N. Kosaka, L. T. Rosenblum, P. L. Choyke, H. Kobayashi : *Nat. Med.*, **17**, 1685 (2011). <https://doi.org/10.1038/NM.2554>.
- 2) K. Ito, M. Mitsunaga, T. Nishimura, M. Saruta, T. Iwamoto, H. Kobayashi, H. Tajiri : *Bioconj. Chem.*, **28**, 1458 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00144>.
- 3) K. Nakajima, F. Miyazaki, K. Terada, H. Takakura, M. Suzuki, M. Ogawa : *Int. J. Pharm.*, **609**, 121135 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121135>.
- 4) J. Jin, B. Krishnamachary, Y. Mironchik, H. Kobayashi, Z. M. Bhujwalla : *Sci. Rep.*, **6**, 27871 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep27871>.
- 5) B. Kiss, N. S. van den Berg, R. Ertsey, K. McKenna, K. E. Mach, C. A. Zhang, J.-P. Volkmer, I. L. Weissman, E. L. Rosenthal, J. C. Liao : *Cancer. Clin. Cancer Res.*, **25**, 3561 (2019). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3267>.
- 6) K. Sato, K. Ando, S. Okuyama, S. Moriguchi, T. Ogura, S. Totoki, H. Hanaoka, T. Nagaya, R. Kokawa, H. Takakura, M. Nishimura, Y. Hasegawa, P. L. Choyke, M. Ogawa, H. Kobayashi : *ACS Cent. Sci.*, **4**, 1559 (2018). <https://doi.org/10.1021/ACSCENTSCI.8B00565>.
- 7) M. Ogawa, Y. Tomita, Y. Nakamura, M. J. Lee, S. Lee, S. Tomita, T. Nagaya, K. Sato, T. Yamauchi, H. Iwai, A. Kumar, T. Haystead, H. Shroff, P. L. Choyke, J. B. Trepel, H. Kobayashi : *Oncotarget*, **8**, 10425 (2017). <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.14425>.
- 8) S. Okuyama, D. Fujimura, F. Inagaki, R. Okada, Y. Maruoka, H. Wakiyama, T. Kato, A. Furusawa, P. L. Choyke, H. Kobayashi : *Cancer diagnosis Progn.*, **1**, 29 (2021). <https://doi.org/10.21873/cdp.10005>.
- 9) M. Kobayashi, M. Harada, H. Takakura, K. Ando, Y. Goto, T. Tsuneda, M. Ogawa, T. Taketsugu : *Chempluschem*, **85**, 1959 (2020). <https://doi.org/10.1002/CPLU.202000338>.
- 10) O. Inanami, W. Hiraoka, Y. Goto, H. Takakura, M. Ogawa : *ChemPhotoChem*, **6**, (2022). <https://doi.org/10.1002/cptc.202100172>.
- 11) H. Takakura, S. Matsuhira, M. Kobayashi, Y. Goto, M. Harada, T. Taketsugu, M. Ogawa : *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **426**, 113749 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOCHEM.2021.113749>.
- 12) K. Nakajima, M. Ogawa : *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **31**, 101926 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101926>.
- 13) K. Nakajima, A. Sugikawa, H. Yasui, K. Higashikawa, C. Suzuki, T. Natsume, M. Suzuki, H. Takakura, M. Tomita, S. Takahashi, K. Hirata, Y. Magata, Y. Kuge, M. Ogawa : *Mol. imaging Biol.*, **25**, 648 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11307-023-01822-9>.
- 14) T. Kato, R. Okada, Y. Goto, A. Furusawa, F. Inagaki, H. Wakiyama, H. Furumoto, D. Daar, B. Turkbey, P. L. Choyke, H. Takakura, O. Inanami, M. Ogawa, H. Kobayashi : *ACS Pharmacol. Transl. Sci.*, **4**, 1689 (2021). <https://doi.org/10.1021/acspsci.1c00184>.
- 15) T. Nagaya, J. Friedman, Y. Maruoka, F. Ogata, S. Okuyama, P. E. Clavijo, P. L. Choyke, C. Allen, H. Kobayashi : *Cancer Immunol. Res.*, **7**, 401 (2019). <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0546>.



小川 美香子 (OGAWA Mikako)

北海道大学大学院薬学研究院生体分析化学研究室 (〒060-0812 北海道札幌市北区北12条西6丁目)。京都大学大学院薬学研究所。博士(薬学)・薬剤師・第一種放射線取扱主任者。《現在の研究テーマ》生体分子イメージングと分子標的治療。

E-mail : mogawa@pharm.hokudai.ac.jp

バイオ材料工学技術による再生腸組織の作製

土 戸 優 志

1 はじめに

医薬品開発などの安全性評価では、臨床試験における被験者への危険を低減させる目的で、その有効性や安全性が未知である化合物をヒトに投与する前に、動物実験で評価・判断を行っている。動物福祉・倫理的な観点から、これらの動物実験を代替する方法の開発が社会的に強く求められており、化粧品分野では既に動物実験が禁止されている国が数多く存在している。このような中、医薬品開発においても生体模倣システム（MPS）や人工知能（AI）のような先端技術を組み合わせた新たな安全性試験を考えていく新しいアプローチや方法論（new approach methodologies, NAMs）を実現する取り組みが進められている¹⁾。動物の苦痛軽減や使用する動物数の削減が進められているものの、データの信頼性を担保するために、今もなお一定の動物実験が必要とされている。このような背景から、これらの評価の代替となるようなモデル再生組織の開発が近年大きな注目を集めている。本稿では、消化管、特に腸に着目した再生組織の開発動向について叙述する。

2 小腸の構造と生理学的機能

小腸は胃と大腸の間に位置する消化器官であり、ヒトの健康や生理的機能に対して非常に重要な機能を果たしている。小腸は体の中の臓器で最も長く、ヒトでは6～7 m、直径は2～3 cmである。小腸は胃側から順に十二

指腸・空腸・回腸の3領域に分類される。十二指腸が最も短い約25 cmで、胃の幽門から続いている。続いて口側のおよそ2/5が空腸、残りの3/5が回腸とされており、空腸と回腸には明確な解剖学的境界は存在せず、回盲括約筋のところで大腸と連結している。小腸壁は他の消化管と同様に4層構造になっており、管腔側から順に粘膜、粘膜下層、筋層、漿膜からなっている。小腸の粘膜表面には輪上のひだがあり、そのひだには絨毛（villi）とよばれる無数の突起が存在する（図1）。絨毛は上皮細胞が単層に連なって形成されており、その内部の粘膜固有層には毛細血管やリンパ管などが張り巡らされている。さらに、上皮細胞の表層には微絨毛（microvilli）と呼ばれる、電子顕微鏡で観察できる小さな突起が無数に存在している。小腸の表面積はこのような複雑な立体構造によって著しく増加しており、腸管腔を円筒と仮定した場合の表面積の約600倍に達していると言われている。

このように、腸管の内腔と外側とで生物学的・機械的・化学的な差異をもつ、不均一で複雑な構造を有する中空臓器である小腸は、口から取り込まれた食物を分解して栄養素や水の吸収を行っており、栄養素は約9割が小腸で吸収される。また、代謝や免疫システムの向上性の維持、消化酵素やホルモンなどを分泌している。生理条件下では、腸壁の筋層が腸壁に沿って波状に収縮・弛緩することにより、血管拡張や血管収縮がおき、管腔内の腸液もリズミカルに蠕動運動する。また、腸内に共

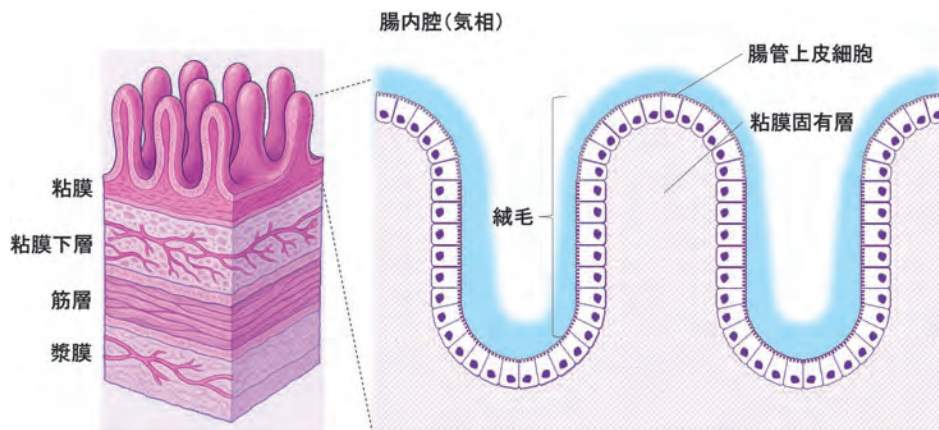


図1 腸の構造

生する細菌の酸素消費により、腸は胃から大腸への管腔内酸素濃度勾配が存在する。このような腸管の複雑な構造や生理学的機能が何らかの要因でその恒常性が崩れると、様々な腸疾患を引き起こすことがわかっている。例えば、腸の炎症は蠕動収縮の抑制を引き起こす可能性があり、腸の偽閉塞をもたらす。また、通常の腸管上皮細胞は、酸素分圧が動的に変化するなかで機能しているが、炎症性腸疾患（IBD）では、その機能が調節不全となっている。このように、疾患の病態解明や創薬、治療法開発のためにヒト腸管を人工的なモデルで再現することは非常に大きな意義があり、生体内での微小環境の性質を再現することが重要である。

3 オルガノイド

腸の機能を人工的に再現する手段として、3次元腸モデルの一つであるオルガノイドが注目されている。腸のオルガノイドは、多能性幹細胞やヒトやマウスの陰窩から採取した腸幹細胞に成長因子を加えて培養することによって作製できる。2009年にSatoらによって、マウス小腸のLgr5陽性幹細胞が、マトリゲル中でWnt3a, Noggin, R-spondin1の添加によって自己組織的に腸管構造を形成することが報告された¹⁾。これは、自己複製しながら間葉系細胞を用いることなしに腸絨毛様構造の形成に成功した点が画期的な点であった。また、Satoらは2011年にヒト腸上皮由来のオルガノイドが長期にわたり維持可能であることを実証した²⁾。同年にSpenceらは、ヒトES/iPS細胞から腸管前駆細胞への分化誘導に成功し、腸オルガノイドを作製した³⁾。これらの報告を皮切りに、ヒトの腸オルガノイドを用いた疾患モデリングや創薬への応用研究が進んでいった。例えば、van de Weteringらは、個別化医療の基盤技術となる、大腸がん患者由来の腸オルガノイドのライブラリ（biobank）を構築し、それを用いて薬剤スクリーニングを行った⁴⁾。さらに、近年では腸オルガノイドとの共培養による研究や再生医療への応用展開が進んでおり、Puschhofらは、腸がんオルガノイドと免疫細胞を共培養にすることによって、PD-1阻害剤に対する免疫応答を評価することに成功した⁵⁾。Sugimotoらは、ヒト腸オルガノイドをマウスの傷害部位に移植して再上皮化し、腸粘膜再建の

実証を行い、再生医療や炎症性腸疾患の新規治療戦略として期待し得る結果を示した⁶⁾。

腸オルガノイドの研究動向についてまとめたものを以下に示した（表1）。腸オルガノイドの研究において、上皮の周辺組織との相互作用の再現が不十分であることが今もなお課題として残されている⁷⁾。腸内細菌との相互作用を再現するために、マイクロインジェクションを利用したり⁷⁾、極性を反転させた腸オルガノイド（頂端側が外向き）を使用することによる研究も進められているが⁸⁾、オルガノイド内部の分析や薬剤の吸収性評価が困難であることが課題である^{7)~9)}。加えて、形態と機能を制御するための操作が複雑であり、人的・金銭的なコストがかかる点で課題が残されている⁷⁾⁹⁾。

4 マイクロ流体デバイス

近年、半導体加工技術のmicro electro mechanical system (MEMS) 技術を用いて、作製した微小空間の中で生体環境を再現した、臓器チップ（organ-on-a-chip）の研究が注目を集めている。チップの流路に培地を連続的に流しながら培養する灌流培養を行うことによって、組織構造を模倣したモデルを作製できると考えられており、腸においてもMEMS技術を用いた腸管チップの開発が進んでいる。

初期のGut-on-a-Chipデバイスとして、Kimらは、ヒト結腸がん由来腸管上皮細胞（Caco-2細胞）を多孔質ポリジメチルシロキサン（PDMS）膜上で培養することによって、せん断応力と周期的な伸縮刺激を再現した臓器チップを報告している¹⁰⁾¹¹⁾。Kasendraらは、ヒト小腸オルガノイドを解離してPDMS製チップに播種し、栄養吸収やバリア機能、分化マーカーが生理的に近い挙動を示すことを明らかにし¹²⁾、Delonらは、マイクロ流体環境に応じたせん断応力を加えることによって、Caco-2細胞の表現型や機能の変化、粘液産生が変化することを明らかにし、Caco-2細胞がせん断応力への感受性が高いことを報告している¹³⁾。近年では、Gazzanigaらが微細加工技術によってマイクロ構造を作製したチップ内で腸絨毛の立体的形成に成功しており、腸の形態形成過程を*in vitro*で精密に再現可能にした点で画期的な成果を報告している¹⁴⁾。さらに、腸管チップをヒト肝細胞と接続することによって、小腸から肝臓への薬物動態も再現

表1 腸オルガノイド研究の研究動向

時期	主要進展	キーワード
2009年以前	幹細胞の同定	Lgr5陽性幹細胞
2010年代初頭	3Dオルガノイドの確立	マトリゲル, Wntシグナル, 自己組織化
2015年以降	疾患モデル・バイオバンク	がんオルガノイド, 個別化医療
2020年代	共培養・免疫・再建	マイクロバイオーム, 免疫共培養, 移植応用

表2 マイクロ流体デバイスによる腸組織モデルの研究動向

時期	主要進展	キーワード
2010年代初頭	Gut-on-a-Chipの基盤確立	Caco-2, せん断応力, 微生物共培養
2015年以降	オルガノイド融合・複雑系	Organoid-on-a-Chip, 患者由来細胞
2020年代	多細胞系, 再生医療, 多細胞	絨毛形成, 免疫細胞, 肝との連携, AIとの統合

する研究も進んでおり¹⁵⁾，薬物代謝，吸収評価への応用展開が進められている。

マイクロ流体デバイスによる腸組織モデルの研究動向についてまとめたものを以下に示した（表2）。

5 セルカルチャーインサート

セルカルチャーインサートは半透明の多孔質膜からなる頂端面側と，通常のディッシュである基底面側の二つのコンパートメントから構成される培養基材である（図2）。*in vitro*における薬物の透過試験や食品の吸収性評価にも使用され，最も一般的に用いられている。セルカルチャーインサートの一般的な多孔質膜の孔サイズは0.4～1 μm ，孔の密度は 4×10^6 pores cm^{-2} 程度である。セルカルチャーインサートの多孔質膜上に，Caco-2細胞を播種して21日間培養することによって，単層の腸上皮組織が形成され，タイトジャンクションや微絨毛の形成がみられる。この組織に対して頂端面側に目的物質を加え，基底面側のコンパートメントに漏れ出た量を測定することにより，物質の透過性を測定することができる¹⁶⁾。

しかし，Caco-2細胞に発現するトランスポーターは培養日数や培養条件により変化し，発現するトランスポーターの数が生体に比べて少ないとされている¹⁷⁾。そのため，セルカルチャーインサートによる腸組織モデルは，受動輸送される物質に対してはヒトと高い相関関係があるものの，吸収/排泄トランスポーターを介して能動輸送される物質に対しては，相関性が低いとされている。

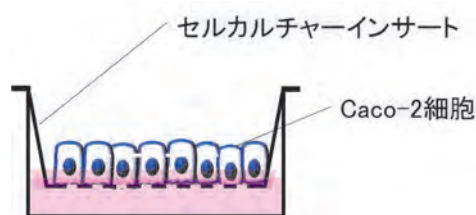


図2 セルカルチャーインサートの構造

る。また，セルカルチャーインサートによる腸組織モデルは，絨毛や陰窩の構造がなく，生体と比較して粘液産生が少ない，免疫機能がないという特徴がある。加えて，生体と比較すると薬物代謝酵素の活性が低いため，バイオアベイラビリティの違いがある点が課題である。生体の腸では上皮が絨毛-陰窩軸に沿って組織を形成して周辺組織と複雑に相互作用しており，平面モデルではそれらの相互作用の再現は難しい¹⁶⁾¹⁸⁾。

そこで近年，生体では腸管上皮細胞は頂端側が気相に接している点に着目し，細胞の基底側が培地に，頂端側が空気に接しているという気液界面培養（air-liquid interface culture, ALI culture）が注目を集めている。気液界面培養は，一般的にセルカルチャーインサートなどの多孔質膜の上に細胞を播種し，下側から培地を供給することで，上側は気相に，下側は液相に接する状態を保つことによって，生体内での上皮組織の環境を模倣している。この培養法は，細胞への酸素供給が液内培養に比べて促進されることで知られている。Antunesらは腸上皮細胞をセルカルチャーインサートに播種し，従来の液内培養と気液界面培養を比較し，腸上皮モデルとしての性能を評価した¹⁹⁾。電子顕微鏡観察によって気液界面培養でより微絨毛が発達し，腸上皮に類似した形態を示した。また，免疫染色によってタイトジャンクションのマーカーであるZO-1, Claudin-1, Occludinの免疫染色によって気液界面培養での発現が明確に増加していることが分かった。また，TEER値が気液界面培養によって有意に増加し，バリア機能が向上していることが分かった。このように，従来法で作製した腸組織モデルに比べて気液界面培養による方法で作製すると，腸管上皮細胞の形態や機能が促進されることがわかっている。

6 二層基材

これまでに，動物実験の代替法として様々な手法によって腸モデル組織の開発が進められていることを述べてきた。これらの手法で作製されたモデル組織は，生体と異なる構造であったり，機能面で不十分であったり，

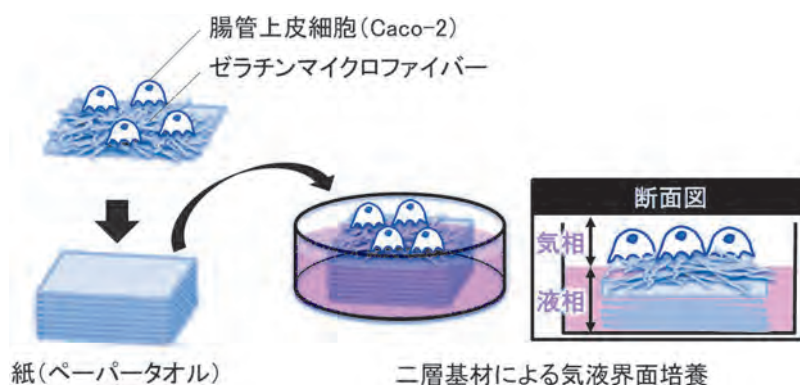


図3 二層基材の構造

それぞれの手法で解決すべき課題が残されている。モデル組織の作製には、生体環境を模倣した方法で作製することが有効であり、灌流や伸縮などの物理的刺激を負荷する培養法が広く試みられてきた。その中で、生体において腸管上皮細胞が気相に接する環境下にあることに着目し、気液界面培養法による腸モデル組織作製を進めてきた。Caco-2 細胞の培養足場材料として、細胞接着層および培養層として利用するゼラチンマイクロファイバーを、培地保持および灌流層として機能する紙にエレクトロスピンニングした二層構造の培養基材を作製した(図3)²⁰⁾。この二層基材は、使用時に任意の適切な大きさに切断することができることが特徴である。先に述べたように、Caco-2 細胞の頂端側が空気にさらされ、基底側が培地に接する気液界面培養は、腸管腔表面の環境をよく模倣することができ、より生体に近い人工腸組織を作製するのに適していると考えられる。

二層培養基材の下層として、市販の紙(ペーパータオル)を用い、その高い吸水力により培地の保持と細胞底面からの培地供給の実現を狙った。また、細胞接着の場として、細胞接着にかかわるアミノ酸配列として知られている RGD (アルギニン(R)-グリシン(G)-アスパラギン酸(D)) 配列を有する生体由来のゼラチンをマイクロファイバー化して紙の上に紡糸することによって、細胞接着性と細胞への通液性を付与した。エレクトロスピンニング法により、直径がマイクロメートルオーダーのゼラチンファイバーをドラムコレクターへ巻きつけた紙に対して紡糸し、グルタルアルデヒドの蒸気に一定時間曝露後、熱処理して架橋することによってファイバーを不溶化させて二層培養基材を作製した。培養液中に浸漬させたこの基材を、経時変化観察することによって安定性を評価したところ、細胞培養条件下においてもファイバーの径や形態の大きな変化は見られず、二層培養基材は長期間安定であった。そこで、二層培養基材に Caco-2 細胞を播種して通常の液内培養を一定期間行って細胞を接着させたのち、折り重ねて培地を含浸させた紙上に二層基材を設置して気液界面培養を行った。10~12 日間培養した Caco-2 細胞について、形成した腸組織の形態や上皮細胞特有のタイトジャンクションと微絨毛の形成の有無、アミノペプチダーゼ (ANPEP) や薬物代謝酵素 (CYP3A4) 活性、腸組織の粘液産生量などの機能面を評価した。まず、作製した腸組織について顕微鏡観察したところ、気液界面培養においてのみ、小腸特有の絨毛構造様の三次元構造(高さ約 60 μm) を形成していることがわかった。この三次元構造を形成した Caco-2 細胞は、腸管上皮細胞に分化したことを示す微絨毛やタイトジャンクションを形成し、従来法で作製した腸組織の系と同等の ANPEP 活性や CYP3A4 活性を示した。また、作製した腸組織が産生した粘液をアルシアンブルー色素を用いて染色し、色の三要素である HSV (色相 (Hue)・彩

度 (Saturation)・明度 (Value)) を用いた画像解析を行い、粘液産生量の定量化を試みた。その結果、興味深いことに、従来法である液内培養で作製した二次元組織では微量であった粘液の分泌が、気液界面培養で作製した三次元組織では 3 倍程度促進されていることがわかった。これは、二層培養基材の下層である紙による毛細管現象によって細胞下層から十分量の培地を安定に供給し、生体を模倣した気液界面環境を構築できていたために達成できたと考えている。以上より、二層基材を用いた気液界面培養法により、生体を模倣した腸モデル組織を構築することができ、さらなる応用展開が期待できる。

7 おわりに

本稿では、再生腸組織の作製に関する研究動向をまとめて紹介した。人工的に作製した再生腸組織は、動物実験と比較すると概して個体差が小さいため、倫理的問題やコスト面での問題解決だけでなく、データの再現性・信頼性の向上も見込まれる。そのため、薬学、栄養学、生物学などの研究の基盤となるツールとして今後の応用展開が大いに期待できる。

文 献

- 1) T. Sato, R. G. Vries, H. J. Snippert, M. V. D. Wetering, N. Barker, D. E. Stange, J. H. V. Es, A. Abo, P. Kujala, P. J. Peters, H. Clevers : *Nature*, **459**, 262 (2009).
- 2) T. Sato, D. E. Stange, M. Ferrante, R. G. J. Vries, J. H. V. Es, S. V. D. Brink, W. J. V. Houdt, A. Pronk, J. V. Gorp, P. D. Siersema, H. Clevers : *Gastroenterology*, **141**, 1762 (2011).
- 3) J. R. Spence, C. N. Mayhew, S. A. Rankin, M. F. Kuhar, J. E. Vallance, K. Tolle, E. E. Hoskins, V. V. Kalinichenko, S. I. Wells, A. M. Zorn, N. F. Shroyer, J. M. Wells : *Nature*, **470**, 105 (2011).
- 4) M. V. D. Wetering, H. E. Francies, J. M. Francis, G. Bounova, F. Iorio, A. Pronk, W. V. Houdt, J. V. Gorp, A. T. Weiner, L. Kester, A. M.-Douglas, J. Blokke, S. Jaksani, S. Bartfeld, R. Volckman, P. V. Sluis, V. S. W. Li, S. Seepo, C. S. Pedamallu, K. Cibulskis, S. L. Carter, A. McKenna, M. S. Lawrence, L. Lichtenstein, C. Stewart, J. Koster, R. Versteeg, A. V. Oudenaarden, J. S.-Rodriguez, R. G. J. Vries, G. Getz, L. Wessels, M. R. Stratton, U. McDermott, M. Meyerson, M. J. Garnett, H. Clevers : *Cell*, **161**, 933 (2015).
- 5) V. Koh, J. Chakrabarti, M. Torvund, N. Steele, J. A. Hawkins, Y. Ito, J. Wang, M. A. Helmrath, J. L. Merchant, S. A. Ahmed, A. Shabbir, J. B. Y. So, W. P. Yong, Y. Zavros : *Cancer Letters*, **518**, 59 (2021).
- 6) S. Sugimoto, Y. Ohta, M. Fujii, M. Matano, M. Shimokawa, K. Nanki, S. Date, S. Nishikori, Y. Nakazato, T. Nakamura, T. Kanai, T. Sato : *Cell Stem Cell*, **22**, 171 (2018).
- 7) T. Nakamura : *International Immunology*, **31**, 13 (2019).
- 8) J. Y. Co, M. M.-Català, X. Li, A. T. Mah, C. J. Kuo, D. M. Monack, M. R. Amieva : *Cell reports*, **26**, 2509 (2019).
- 9) F. Perrone, M. Zilbauer : *Exp. Mol. Med.*, **53**, 1451 (2021).
- 10) H. J. Kim, D. Huh, G. Hamilton, D. E. Ingber : *Lab on a Chip*, **12**, 2165 (2012).
- 11) H. J. Kim, D. E. Ingber : *Integrative Biology (Camb)*, **5**, 1130 (2013).

- 12) M. Kasendra, A. Tovaglieri, A. S.-Phelps, S. J.-Firoozinezhad, A. Bein, A. Chalkiadaki, W. Scholl, C. Zhang, H. Rickner, C. A. Richmond, H. Li, D. T. Breault, D. E. Ingber : *Scientific Reports*, **8**, 2871 (2018).
- 13) L. C. Delon, Z. Guo, A. Oszmiana, C.-C. Chien, R. Gibson, C. Prestidge, B. Thierry : *Biomaterials*, **225**, 119521 (2019).
- 14) S. J.-Firoozinezhad, F. S. Gazzaniga, E. L. Calamari, D. M. Camacho, C. W. Fadel, A. Bein, B. Swenor, B. Nestor, M. J. Cronce, A. Tovaglieri, O. Levy, K. E. Gregory, D. T. Breault, J. M. S. Cabral, D. L. Kasper, R. Novak, D. E. Ingber : *Nat. Biomed. Eng.*, **3**, 520 (2019).
- 15) J. Yang, Y. Hirai, K. Iida, S. Ito, M. Trumm, S. Terada, R. Sakai, T. Tsuchiya, O. Tabata, K. Kamei : *Communications Biology*, **6**, 310 (2023).
- 16) X. Ding, X. Hu, Y. Chen, J. Xie, M. Ying, Y. Wang, Q. Yu : *Trends in Food Science & Technology*, **107**, 455 (2021).
- 17) I. J. Hidalgo, J. Li : *Adv. Drug Delivery Rev.*, **22**, 53 (1996).
- 18) P.-A. Billat, E. Roger, S. Faure : *Drug Discovery Today*, **22**, 761 (2017).
- 19) C. Nossol, A.-K. Diesing, N. Walk, H. F.-Zuschratter, R. Hartig, A. Post, J. Kluess, H.-J. Rothkötter, S. Kahlert : *Histochem. Cell Biol.*, **136**, 103 (2011).
- 20) M. Nagasawa, M. Onuki, N. Imoto, K. Tanaka, R. Tanaka, M. Kawada, K. Imato, K. Iitani, Y. Tsuchido, N. Takeda : *Biofabrication*, **16**, 035029 (2024).



土戸 優志 (TSUCHIDO Yuji)

芝浦工業大学 SIT 総合研究所 (〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307).
東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部高次生命科学専攻 博士 (理学). 《現在の研究テーマ》分子認識, 細菌と相互作用する生体組織・材料に関する研究.

E-mail : tsuchido@shibaura-it.ac.jp

原 稿 募 集

創案と開発欄の原稿を募集しています

内容：新しい分析方法・技術を創案したときの着想, 新しい発見のきっかけ, 新装置開発上の苦心と問題点解決の経緯などを述べたもの。但し, 他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 会員の研究活動, 技術の展開に参考になるよう, 体験をなるべく具体的に述べる。物語風でもよい。2) 従来の分析方法や装置の問題点に触れ, 記事中の創案や開発の意義, すなわち主題の背景を分かりやすく説明する。3) 図や

表, 当時のスケッチなどを用いて理解しやすくすることが望ましい。4) 原稿は図表を含めて 4000 ~ 8000 字 (図・表は 1 枚 500 字に換算) とする。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]

NMR を活用した農畜水産物・食品の非破壊・網羅的成分分析

伊 藤 研 悟

1 はじめに

農畜水産物や食品の成分分析は、「安全性・品質・機能性・価値」を科学的に保証・向上させるうえで非常に重要である。従来は、核磁気共鳴法（nuclear magnetic resonance, NMR）や質量分析法、クロマトグラフィーなどの分析技術を用いて、特定の成分の化学構造や定量値などを評価してきた。一方、近年では成分全体を網羅的に分析・解析するメタボロミックスの分野が急速に発展している。また、メタボロミックスと、非侵襲的な計測と網羅的な検出が可能な NMR を組み合わせた「NMR メタボロミックス」という新たな研究領域は、複雑な要因と多様な成分を扱う農畜水産物・食品の研究において関心を集めている。さらに、計測用試料を破碎や抽出などの調製工程を経ることなく、そのまま丸ごと NMR で成分分析を行う「インタクト NMR 計測法」の技術開発も進んでいる。こうした新たな研究領域と技術は、今後のスマート農業や水産業、機能性食品の開発、品質保証といった多角的な分野への応用が期待される。本稿では、NMR を用いた農畜水産物・食品の網羅的な成分評価の現状と今後の展開について、「NMR メタボロミックス」の概要から「インタクト NMR 計測法」の新たな可能性に焦点を当て、最新の研究事例と共に解説する。

2 農畜水産物・食品研究における NMR メタボロミックス

2.1 概要

NMR は、農畜水産物や食品に含まれる有用成分や機能性成分などの化学構造決定に加え、アミノ酸、有機酸、糖類、脂質など多様な代謝物を網羅的に検出・定量解析するメタボロミックスへの活用が有効であるといえる。以下に、農畜水産物・食品研究における「NMR メタボロミックス」の利点を示す。

- 容易な試料調製
溶液試料は濃縮することで検出感度が向上
- 幅広い試料状態に対応
液体から半固体、固体状態まで計測が可能
- 計測の非破壊性
試料を消費せず、計測後の再利用や回収が可能
- 成分の網羅的検出と同定

非侵襲的かつ非選択的に計測し、データベースを用いて成分を特定することが可能

- 再現性と定量性の確保
過去のデータとの比較や統合が可能
- 機器間の互換性
数値化された波形データは異なる分析データとの統合解析が可能
- 多様な分析法と計測法に対応
低分子から高分子まで、様々な物理情報の取得が可能
- 試料調製の良好なコストパフォーマンス
溶液 NMR 計測用試料は 1 本あたり数百円程度で調製が可能
- 多検体自動計測
オートサンプラーを併用することで、1 本あたり数分程度の自動計測が可能となり、高いスループットでのデータ取得を実現

これらの特性により、年次変動のような長期の調査が必要となる農畜水産業・食品産業の現場において、多様な試料の大量分析に適している。そのため、「NMR メタボロミックス」は栄養・品質評価や栽培条件の最適化、産地や品種判別などに展開されている¹⁾。また、持続可能な農畜水産業、機能性食品の開発、品質保証の分野においても、その重要性はますます高まりつつある。

2.2 NMR メタボロミックスの流れ

農畜水産物・食品研究における「NMR メタボロミックス」の流れを図 1 に示す。

① NMR による成分分析の対象となるサンプルを選定する。NMR で計測可能なサンプルは、農畜水産物およびその加工品に加え、土壌や河川水などの環境資源、絹や羊毛といった生物素材、肥料、微生物など、多岐にわたっている。

② NMR 計測用試料を調製する。調製の際には、サンプルを凍結乾燥させた後、破碎装置を用いて粉末化する。固体 NMR 計測を行う場合は、そのまま粉末試料を固体 NMR 計測用試料管に充填する。一方で、溶液 NMR 計測を行う場合は、粉末試料に重水素化された水やメタノール、クロロホルムなどの溶媒を加え、加熱または常温で攪拌して極性成分を抽出する。その後、遠心

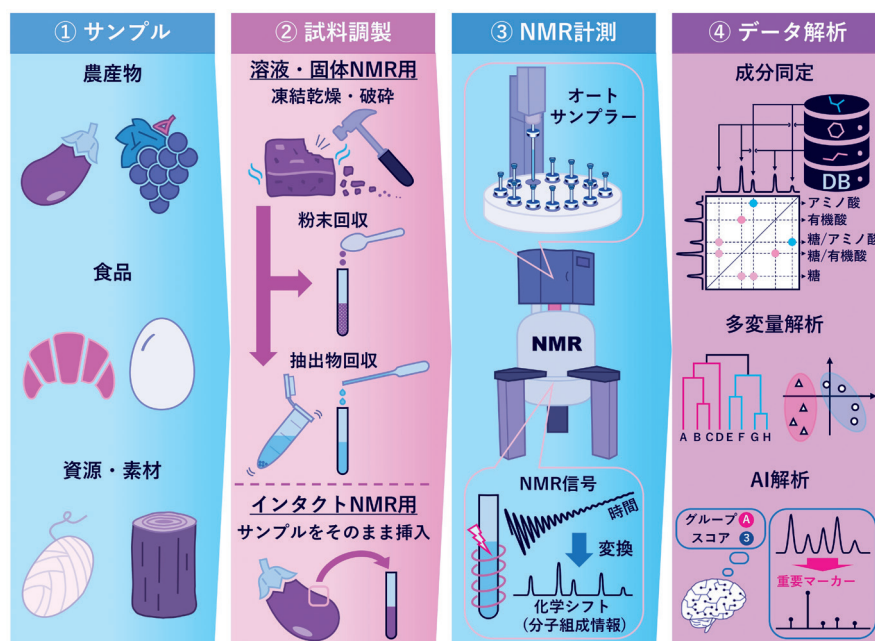


図1 農畜水産物・食品研究におけるNMRメタボミクスの流れ

分離を行い、上清を溶液NMR計測用試料管に充填する。また、インタクトNMR計測を行う場合は、サンプルの一部あるいは全体をそのままNMR計測用試料管に挿入する。

③ NMR計測を行うにあたっては、NMR計測用試料管をNMR装置にセットし、重溶媒ロック、シム調整、チューニング/マッチング、計測法の選択、計測パラメータの設定、レシーバーゲインの調整などを経て、計測を開始する。オートサンプルチェンジャーを搭載したNMR装置では、最大で約500の試料を自動で連続計測することも可能である。NMR計測では、大型の超電導磁石内にセットされた試料にラジオ波を照射し、励起した成分群から時間領域の自由誘導減衰（free induction decay, FID）データを取得する。このFIDデータをフーリエ変換することで、各成分が持つ固有の共鳴周波数に基づいたNMRスペクトルを取得する。さらに、共鳴周波数のずれは、内部標準物質のピークを基準に補正され、汎用的な成分組成情報である化学シフトに変換される。

④ NMRスペクトルのデータ解析を行う。まず、NMRスペクトルの各ピークがどの成分に対応するかを同定する。農畜水産物や食品は多数の成分が混在するため、NMRスペクトルは複雑になるが、各成分は化学構造に応じた固有の化学シフトやNMR信号の分裂パターンを示すため、純成分のNMRスペクトルを収録したデータベースとの照合によって成分同定が可能である。成分同定された複数のNMRスペクトルは、主成分分析（principal component analysis, PCA）や階層クラスタ解析などの多変量解析に供することで、例えば品種、産地、栽培条件による成分の違いなどを特徴付けることが

できる。また、機能性や病理に関連するメタデータを教師データとして、人工知能（artificial intelligence, AI）の深層学習アルゴリズムを活用した回帰・分類解析を行うことで、機能性成分や病理診断マーカーの発見にも繋げることができる²⁾。

2.3 NMR計測のターゲットスケール

NMR計測においては、計測対象のスケールや目的に応じて適切な分析法および計測法を選択する必要がある。図2に、NMR計測のターゲットスケールを示す。

まず、低分子化合物といったミクロスケールの解析では、主に溶液NMRが用いられ、分子の組成情報を取得できる。例えば、異種核単一量子コヒーレンス法（hetero-nuclear single quantum coherence, HSQC）では、低分子化合物を構成する水素と炭素の相関信号シグナルを検出でき、全相関分光法（total correlation spectroscopy, TOCSY）では、同一分子内の水素同士の相関信号を検出でき、これらの情報により、低分子化合物の骨格構造を推定することが可能である。また、二次元J分解分光法（two-dimensional J-resolved spectroscopy, 2D J ）では、同一分子内の隣接する水素間のスピン結合情報を抽出できるため、立体構造の推定にも有効である。時間領域（time-domain, TD）NMRでは、横緩和時間計測法（carr-purcell-meiboom-gill, CPMG）や拡散順序分光法（diffusion-ordered spectroscopy, DOSY）などを用いることで、分子の磁気緩和や拡散といった物性情報を取得することができる。

さらに、より大きなスケールでは固体NMRが適用される。交差分極-マジック角回転法（cross polarization magic angle spinning, CP-MAS）などにより、高分子化

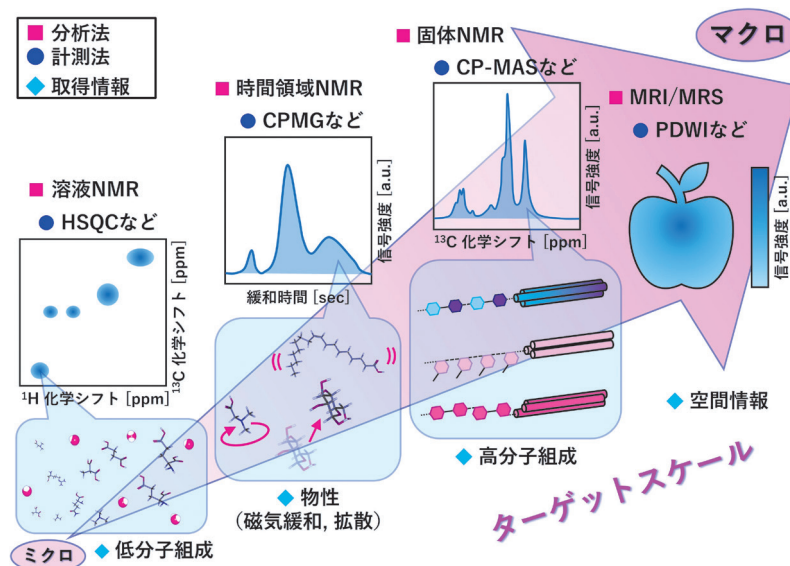


図2 NMR計測のターゲットスケール

化合物や固体材料の構造や組成の評価が可能である。最もマクロなスケールにおいては、NMRと同じ原理を利用する磁気共鳴画像法（magnetic resonance imaging, MRI）や磁気共鳴分光法（magnetic resonance spectroscopy, MRS）が用いられる。これにより、陽子密度強調画像法（proton density-weighted imaging, PDWI）などを通じて、生体内の空間情報や代謝物の分布などを可視化できる。

このように、NMRはミクロからマクロに至るまで、階層的に異なるスケールの物質や現象に対応可能であり、それぞれに適した手法の選択が重要である²⁾。また、これらのNMR分析法・計測法を横断的に用いて情報を網羅的に取得し、統合的に解析することで、生物という複雑なシステム全体の理解に貢献することができる。さらに、NMR技術の高度化により、従来法では取得できなかった生体内現象の解明に繋がる情報取得も可能となる。次節および次章では、これらの具体的な研究事例を紹介する。

2.4 海藻類のマルチオミクス解析

海藻類は健康食品や工業原料として有用な多糖類やミネラルを豊富に含んでおり、その成分組成は季節や環境などの要因によって変動することが知られている。従来、これらの成分分析とデータ解析は個別に行われることが多く、多様な有機成分と無機成分を統合的に評価する手法は限られていた。そこで本研究では、海藻類のヒジキに含まれる有機・無機成分を網羅的に分析し、これらの成分の時系列変動と相互関係を計量化学的手法により明らかにすることを試みた。

神奈川県三浦市の海岸にて、1年間にわたり月1〜2回の頻度でヒジキを採取し（図3A）、以下の成分分析を

行った。低分子から高分子までの有機成分については、溶液NMR、固体NMR、フーリエ変換赤外分光法（fourier transform-infrared spectroscopy, FT-IR）、示差熱・熱重量測定法（thermogravimetry-differential thermal analysis, TG-DTA）、同位体比質量分析法（isotope ratio mass spectrometry, IR-MS）、全自動元素分析法（CHNS/O analyzer）を用いて分析を行った。また、金属イオンなどの無機成分については、誘導結合プラズマ発光分光分析法（inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, ICP-OES）を用いて分析を行った。取得したスペクトルデータは、多変量スペクトル分解法（multivariate curve resolution alternating least-squares, MCR-ALS）により純成分のピークを抽出し、各種分析データと統合した。統合したデータに対して、PCAおよび自己組織化マップ（self-organizing maps, SOMs）を用いたパターン抽出を行った。さらに、成分間の相関ネットワークを構築し、構造方程式モデリング（structural equation modeling, SEM）により、有機成分と無機成分の相互関係を統計的に検証した。

その結果、ヒジキに含まれる成分には季節による顕著な変動が見られた。PCAおよびSOMsにより、各成分因子が時間経過に応じてクラスタリングされ、成分間の同調的な変動パターンが視覚的に示された。相関ネットワーク解析からは、夏季に濃度が高まる多糖類であるアルギン酸がFe、Al、Tiなどの金属イオンと高い相関を示し、この関係性はSEMにより統計的に検証された（図3B、C）。これらの成分変動は、光合成活性や成長過程における生理的变化、海水中の無機塩濃度変動などに起因する可能性が高いと考えられた。また、アルギン酸は金属イオンを選択的に取り込む性質を持つことが知られており、時系列的に変動する生体内の状態に応じ

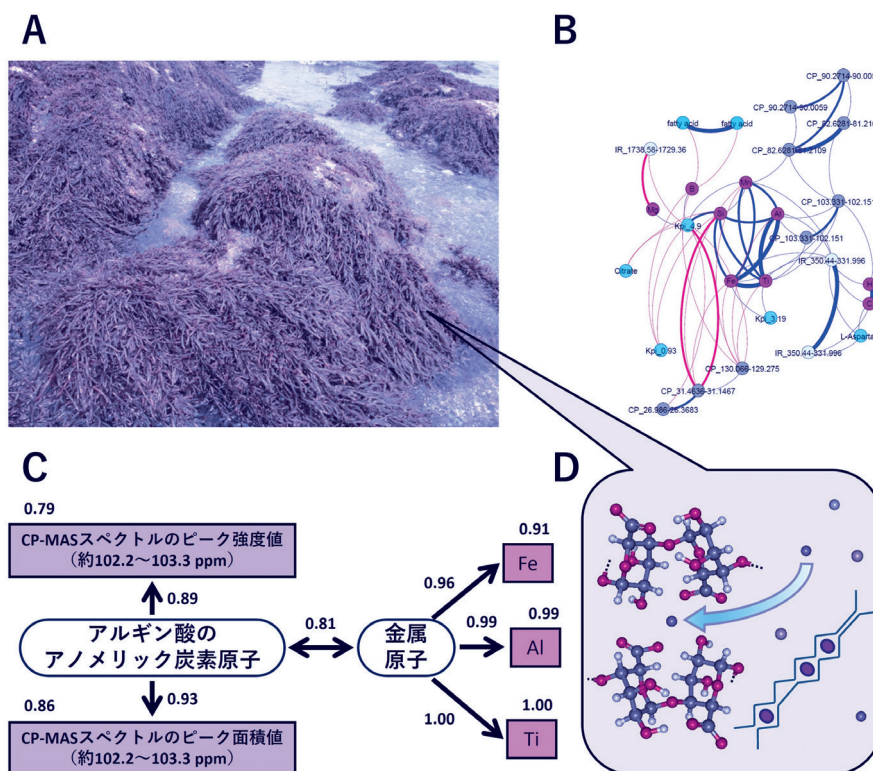


図3 (A) NMR計測などに供したヒジキ；(B) 各種計測データの統合相関ネットワーク；(C) アルギン酸と金属原子の構造方程式モデル；(D) アルギン酸が金属吸着するイメージ

Adapted with permission from reference 3. Copyright 2014 American Chemical Society.

てアルギン酸の構造が変化し、それが無機成分の取り込みに影響を与えていると考えられた（図3D）。この統合解析により、有機成分と無機成分からなる因子ネットワークが季節変化に応じて形成される様子を、初めて計量化学的に示すことができた³⁾。

本研究は、海藻類の成分を網羅的かつ統合的に評価する新たな解析戦略を提示し、自然環境が生物の成分構成に与える影響の全体像を明らかにした。これにより、海藻類の生理的応答や成分制御の理解が大きく進展すると考えられた。さらに、本手法は他の海藻類や農畜水産物にも適用可能であり、天然資源の品質評価や栽培管理、食品・医薬品原料の最適化利用に向けた応用が期待される。将来的には、地球環境変動と生物機能の関係を解明するための基盤技術としても活用されることが期待される。

3 インタクトNMR計測法を用いた農畜水産物・食品の丸ごと解析

3.1 概要

農畜水産物や食品中の成分を網羅的に分析する際には、前述の様に、対象とする成分に応じた試料調製が必要であり、複数の分析装置を用いることが一般的である。そのため、得られる成分情報は使用する抽出溶媒や調製方法に依存し、成分情報の取りこぼしが発生する可能性がある。また、成分分析のための試料調製は通常、

破壊的な操作を伴うため、成分と構造体との関連性が失われ、生体内現象や全体構造の状態を評価することが困難となる。

一方で、NMRは原理的に成分の抽出などを行わずに、農畜水産物や食品をそのままの状態で分析することが可能である。このように、試料を非破壊でNMR計測する技術は「インタクトNMR計測法」と呼ばれている。しかし、農畜水産物や食品をそのままの状態でのNMR計測する場合、組織間の磁化率の差によって局所磁場が不均一となることや、分子の静磁場方向に対する共鳴周波数の異方性、粘度の影響による分子運動の制御などにより、FIDが早期に消失し、各成分のNMR信号のピーク幅が広がる。これにより、スペクトル全体にわたってNMR信号のピークが重なり、個々の成分の種類や量を特定することが困難になるという課題がある。このため、農畜水産物や食品中の成分とその状態を非破壊的かつ高分解能に評価可能とする新たな技術の開発が求められている⁴⁾。

3.2 スジエビの部位における成分動態評価

農畜水産物や食品における空間的な成分分布や物性といった、表面的に「見えない品質」の評価は、食品の安全性や機能性、価値を保証・向上させるうえで重要である。NMRやMRI、MRSから、非侵襲的な成分評価や空間的な動態、成分の空間分布を観察することが可能であ

るが、有機体を「ありのままの状態」で、個々の成分・物性・空間分布を一括で評価できる計測法は存在しなかった。そこで本研究では、生体や食品といった複雑な混合系において、成分の組成、拡散係数や磁気緩和時間といった物性、および空間的な位置情報を非破壊的かつ高分解能で同時に取得可能な、新しいNMR計測法とデータ解析法の開発を試みた。

まず、試料中の成分分布を評価する化学シフトイメージング法 (chemical shift imaging, CSI) と、拡散や磁気緩和といった物性を評価する DOSY 法および CPMG 法を組み合わせ、空間分子動学的順序分光法 (spatial molecular-dynamically ordered spectroscopy, SMOOSY) と名付けた新たな NMR 計測法を構築した。また、生体のように空間構造が不均一な試料では、前述したように、共鳴周波数の異方性や分子運動の制限により NMR スペクトルが広がってしまう問題がある。これを解消するため、NMR 計測中に試料管を高速回転させる高解像度マジックアングルスピニング法 (high-resolution magic-angle-spinning, HR-MAS) を併用した。さらに、SMOOSY 法により得られる NMR スペクトルは 3 次元であり、直感的な評価が難しいため、スペクトルを 2 次元画像として可視化し、生体内の成分組成、分布、物性を一目で評価可能とする疑似スペクトル画像法も開発した。

この SMOOSY 法をスズエビに適用した結果、頭部から尾部にかけての体軸方向における脂質、有機酸、アミノ酸などの成分分布と、これらの拡散係数や磁気緩和時間といった物性の空間的変化を非破壊的に評価することに成功した (図 4)。具体的には、ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid, DHA) やエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) といった脂質は全体

に分布していたが、頭部では拡散係数が低く、尾部では高いことが確認された。これは、エビの殻を構成するキチンといった硬い性質を持つ高分子との相互作用や、分子群が密な状態で存在することで分子運動が抑制され、拡散係数が低くなったと考えられた。また、この結果から頭部の方が尾部よりも硬い物性を有していることが示された。さらに、タウリンやベタインなどの成分は全体に分布している一方で、拡散係数に明確な空間変化が見られなかった。このことから、これらの成分は他の成分とほとんど相互作用せず、遊離状態で存在していると考えられた⁵⁾。

このように、SMOOSY 法は、従来の NMR や MRI、MRS の計測法では困難であった、生体や食品といった複雑な混合系における成分の組成・物性・空間情報を同時に高分解能で取得することを可能にした。特に、試料を非破壊で評価できる点は、食品の部位ごとの食感や呈味、加工・保存状態の評価、医療分野における生体組織の診断、さらには材料科学における新素材の評価など、多様な分野での革新的な応用が期待される。

3・3 野菜類の発酵過程における成分変化の追跡

NMR を用いた農畜水産物や食品中の低分子成分の分析には、従来、試料から成分を抽出して計測する方法や、前節で紹介した HR-MAS 法を併用して試料全体を計測する方法が用いられてきた。HR-MAS 法を適用する試料の調製は比較的簡便であるという利点がある一方、NMR 計測には専用の付帯装置を必要とし、試料管を高速回転させる必要があるため、食品の種類によっては細胞組織や構造を損傷するリスクがあるという課題が残されていた。そこで本研究では、HR-MAS 法を併用せず、かつ食品を破壊せずに、そのままの状態で高分解

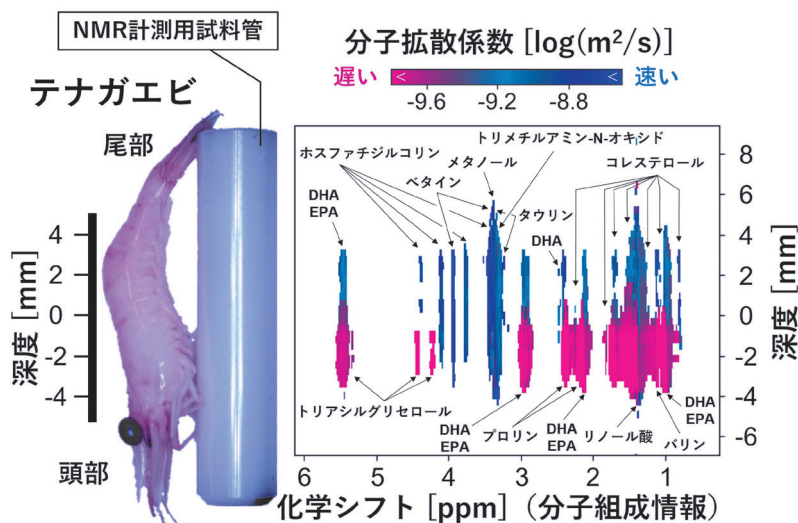


図 4 テナガエビ科スズエビの SMOOSY 疑似スペクトル画像

文献 5 の図 2 を一部改変して転載 (クリエイティブ・コモンズ 表示 4.0 国際ライセンス <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> の下に提供されています)。

能の NMR スペクトルを取得する新たな計測法を導入することとした。また、その応用例として、野菜の発酵過程における成分変化を包括的かつ非破壊的に解析することを試みた。

まず、試料に照射するラジオ波パルスの種類やタイミングを調整することで、磁化率の不均一性によって引き起こされる NMR スペクトルの幅広化を抑制する分子間単一量子コヒーレンス法 (intermolecular single quantum coherence, iSQC) を用いたインタクト NMR 計測プログラムを作成した。次に、米ぬか床で発酵させたニンジンとキュウリを用い、発酵実験の 0 日目、3 日目、7 日目の各段階で、成分抽出を行わずそのままの状態での NMR 計測用試料管に挿入し、NMR 計測を行った。

新たに構築したインタクト NMR 計測法では、例えば発酵実験 3 日目のニンジンから得られた NMR スペクトルにおいて、約 2 ppm に観測される NMR 信号のピーク幅が、従来の NMR 計測法の約 37 Hz から約 11 Hz へと大幅に狭まり、約 3 倍の分解能向上が確認された (図 5)。その結果、従来の NMR 計測法では判別が困難であった糖類、アミノ酸、有機酸など、計 15 種類の成分

を高分解能で検出し、同定することに成功した。さらに、各発酵段階における NMR スペクトルを比較したところ、 γ -アミノ酪酸、アラニン、アスパラギン、フルクトース、グルコース、グルタミン、ロイシン、リンゴ酸、スクロースなどの成分は発酵実験 0 日目で多く検出されたが、発酵実験 3 日目以降にはほとんど検出されなくなった。一方で、酢酸、乳酸、未知成分の NMR 信号は発酵実験 3 日目と 7 日目で顕著に検出され、発酵実験 0 日目ではほとんど検出されなかった。このことから、発酵の進行に伴って糖類が減少し、アミノ酸や有機酸が増加するという変化が明確となり、微生物による糖代謝および乳酸発酵が進行したことが示唆された⁶⁾。

本研究により、インタクト NMR 計測によって得られる NMR スペクトルからでも成分同定が可能であり、成分間の定性的な評価が十分に行えることが示された。抽出物ではなく、試料を「ありのままの状態」で計測することで、より実態に即した評価が可能となったといえる。また、HR-MAS 法のような特殊な装置を必要とせず、一般的な NMR 装置に計測プログラムを導入するだ

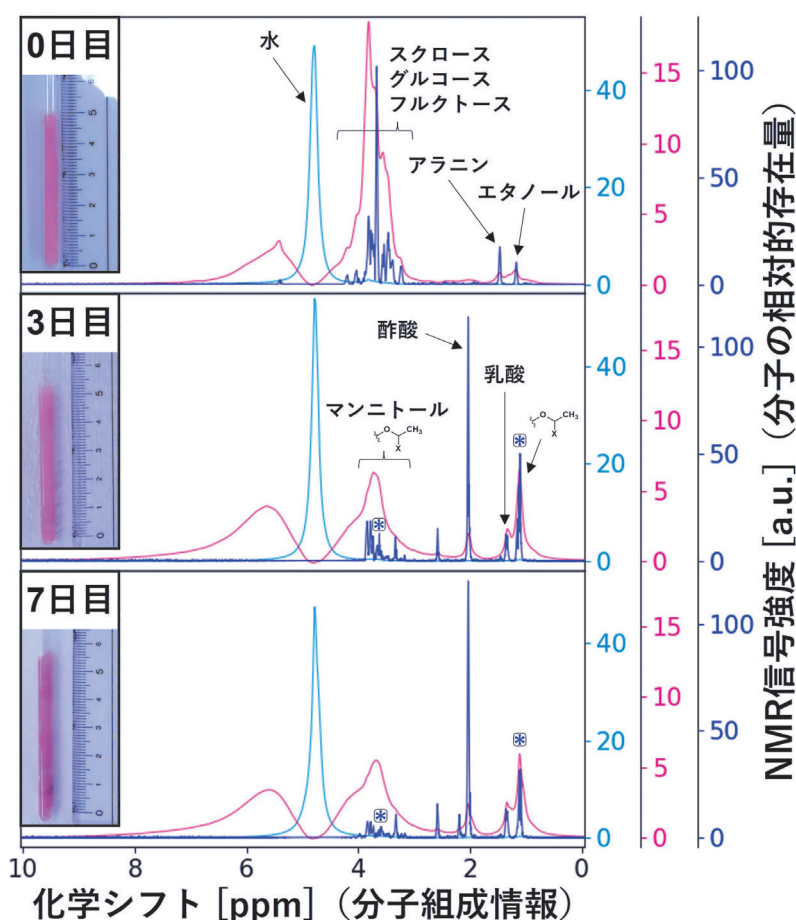


図5 ニンジンの発酵過程におけるインタクト NMR スペクトルの変遷

それぞれ、従来の NMR 計測法 (緑), 水分子由来の NMR 信号を抑制する従来の NMR 計測法 (赤), iSQC 法 (青) で取得した文献 6 の図 1 を一部改変して転載 (クリエイティブ・コモンズ 表示 4.0 国際ライセンス <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> の下に提供されています)。

けで分析できる点も大きな利点である。今後、本研究で構築したインタクト NMR 計測法を様々な農畜水産物や食品に適用することで、試料調製を要しない簡便な成分分析が可能になると期待される。さらに、農畜水産物や食品を非破壊で計測できるため、これまで見落とされていた生命現象や成分情報の発見に繋がり、新たな食品の品質評価法の開発が加速されることが期待される。

3・4 農畜水産物・食品のどこでも簡易的品質評価

高磁場 NMR は、農畜水産物・食品研究の分野において、成分の網羅的な評価から有用成分の構造解析まで、幅広く利用されている。一方で、装置の維持管理は高コストとなり、また、大型の専用施設を必要とすることから、利用環境は限られていた。近年、NMR 装置の小型化・ポータブル化が進展しており、低コストで操作が簡便かつ可搬性があることから、現場での適用性が高いとして注目されている。小型 NMR 装置である卓上型 NMR や TD-NMR は、実験室の片隅にも設置可能であり、農畜水産物・食品中の成分や物性を簡易に評価できる。さらに、小型 NMR 装置の中でも片側開放型低磁場時間領域プロトン NMR (片側 NMR) は、農畜水産物や食品品質管理の現場にも運搬できる構成となっている。片側 NMR の計測は、計測対象物にマグネットを聴診器の様に当てることで行い、内部の状態を非破壊的に評価することができる⁷⁾。

片側 NMR の具体的な計測事例を図 6 に示す。ここでは、生卵およびトマトをマグネットの上に載せ、CPMG 法による計測を実施した。取得した磁気緩和時間分布データを逆ラプラス変換して NMR スペクトルを得たところ、それぞれ三つの成分ピークが確認された。磁気緩和時間は分子量や分子の運動性を反映しており、時間が長いほど低分子、短いほど高分子に対応する。このことから、磁気緩和時間が長いピークは水分由来、短いピークはタンパク質や多糖由来であることが示唆された。

現段階では、詳細な成分評価には他の分析装置から得られる情報との照合が必要であるものの、現場で簡便かつ非破壊的な品質評価が可能となる未来像が見えてきた。今後も引き続き、農畜水産物や食品品質管理の現場適用に向けた可能性を検証していく予定である。

4 おわりに

本稿では、NMR を活用した農畜水産物や食品中成分の非破壊的かつ網羅的な評価に関する新たな可能性と応用性について、最新の研究事例を交えて紹介した。特に「インタクト NMR 計測法」による成分分析においては、従来の破壊的手法では得られなかった、生体や食品中の成分の「ありのままの状態」と、それに伴う空間的・物性的な情報を高分解能で取得可能となった点は、技術的ブレイクスルーといえる。また、小型で可搬性のある NMR 装置は現場での適用性が高く、品質管理や簡易診

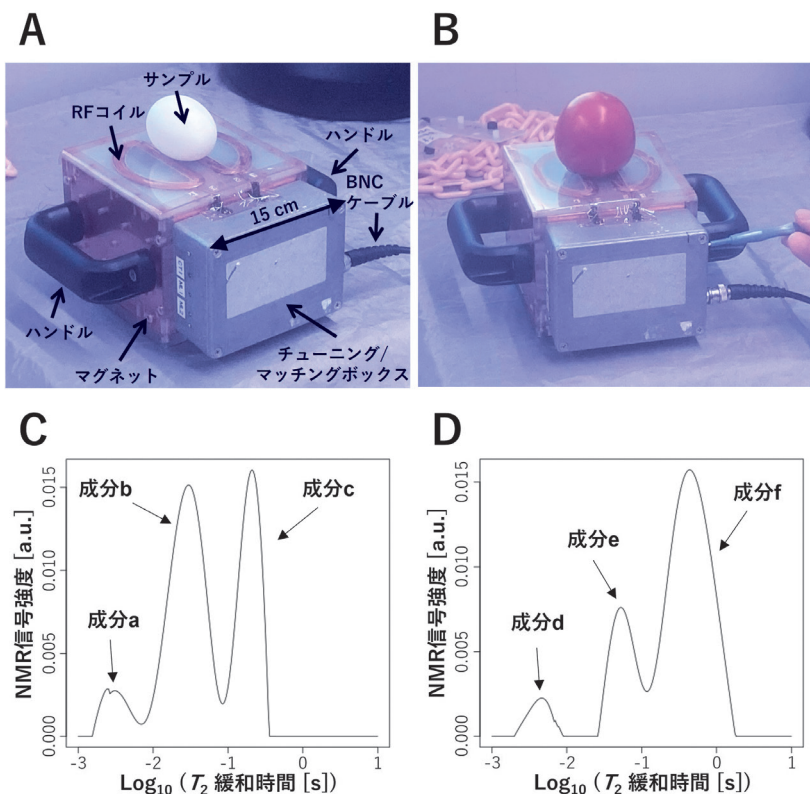


図 6 片側 NMR のマグネットの構成と計測対象である (A) 生卵および (B) トマトの配置。取得された (C) 生卵および (D) トマトの磁気緩和時間分布データを逆ラプラス変換して得られた NMR スペクトル

断の手段としての実用化へ向けた開発・実装が進むことが期待される。今後は、NMR と AI 解析との連携により、より高精度かつ迅速な成分評価が可能となることが見込まれる。さらに、生体組織や加工食品など、時間的・空間的に変動する複雑な混合系にも対応可能な解析技術の発展により、農畜水産業および食品産業の高度化・効率化への貢献が期待される。インタクト NMR 計測法をはじめとする新たな分析・解析技術は、今後の持続可能な農畜水産業および次世代の食品評価における基盤技術として、さらなる発展が望まれる。

謝 辞 本研究の一部は JSPS 科研費 JP25K08713 の助成を受けたものである。

文 献

- 1) 関山恭代：オレオサイエンス，**19**, 109 (2019).
- 2) J. Kikuchi, K. Ito, Y. Date : *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*,

104, 56 (2018).

- 3) K. Ito, K. Sakata, Y. Date, J. Kikuchi : *Anal. Chem.*, **86**, 1098 (2014).
- 4) 伊藤研悟，関山恭代：農研機構技報，**17**, 26 (2025).
- 5) K. Ito, Y. Tsuboi, J. Kikuchi : *Commun. Chem.*, **3**, 80 (2020).
- 6) K. Ito, R. Yamamoto, Y. Sekiyama : *Metabolites*, **14**, 391 (2024).
- 7) Y. Nakashima : *J. Nondestr. Eval.*, **42**, 90 (2023).



伊藤 研悟 (Ito Kengo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構基盤技術研究本部農業情報研究センターデータ研究推進室 (〒305-8601 茨城県つくば市観音台 2-1-9). 横浜市立大学生命医科学研究科生命医科学専攻博士後期課程. 博士 (理学). 《現在の研究テーマ》有機体の成分・物性・空間相関情報を取得する高分解能インタクト NMR 計測法の開発. 《趣味》ドライブ.

E-mail : ito.kengo722@naro.go.jp

原 稿 募 集

トピックス欄の原稿を募集しています

内容：読者の関心をひくような新しい分析化学・分析技術の研究を短くまとめたもの。

執筆上の注意：1) 1000 字以内 (図は 1 枚 500 字に換算) とする。2) 新分析法の説明には簡単な原理図などを積極的に採り入れる。3) 中心となる文献は原則として 2 年以内のものとし、出所を明記する。

なお、執筆者自身の文献を主として紹介するこ

とは御遠慮ください。又、二重投稿は避けてください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]

D-アミノ酸が拓く新たな世界

唐 川 幸 聖

1 はじめに

「環世界」という言葉をご存知だろうか？ 同じ空間でも生物によって見え方や視空間が異なっており、それぞれが見ている世界を環世界と呼ぶ¹⁾。例えば、草花が茂る草原を見たときに私たち人間は緑色の草や色とりどりの花、そこに飛び交う蝶などの昆虫が目に入る。ところが蝶の視点になると蝶は人間では見えない紫外線も使い、花の蜜を頼りに飛び交っており、人間がその見え方の世界に入ることにはできない。人間同士でも同じ空間にいても一人ひとりの着眼点や認識が異なり、環世界が異なっていると考えられる。

さて、本題のアミノ酸においても私たち同じ人間、そして科学者であっても見ている世界は異なっているように思う。アミノ酸は私たちの体およびタンパク質を構成するパーツであるとみている人もいれば、それぞれのアミノ酸の種類、構造、機能に分類して見ている人もいる。アミノ酸が体の栄養素として重要であることは皆さんご存知であろうが、その種類によって機能が大きく異なる。例えば、筋肉の修復のためにはアミノ酸の中でもバリン、ロイシン、イソロイシンという分岐鎖アミノ酸(BCAA)が機能する。そのため運動の後の飲料やサプリメントにはBCAAが配合されているものを選ぶとよい。

さらに私が本稿で紹介したいのは、アミノ酸の光学異性体の世界である。私たちが一般にタンパク質の構成アミノ酸や栄養素としてのアミノ酸を語るときはL体のアミノ酸の話である。実はアミノ酸には鏡に映した構造の

D体のアミノ酸がある。L体とD体のアミノ酸を分ける分析技術が普及したことにより私たちのアミノ酸に対する環世界が変わった(図1)。

アミノ酸のD体とL体を分離する技術として代表的なものはHPLCを用いた手法である。キラルカラムで分離する方法やキラル誘導体化試薬でジアステレオマーに変換して分離する方法があるが、これまでに幅広くD-アミノ酸研究に活用された分析法としては、蛍光誘導体化試薬4-フルオロ-7-ニトロ-2,1,3-ベンズオキサジアゾール(NBD-F)によるプレカラム誘導体化と2次元LCを組み合わせた方法がある²⁾。1次元目の逆相カラムで各種アミノ酸を分離し、2次元目のキラルカラムでD体とL体を分離することで選択性、感度ともに優れた方法である。また、最近アミノ酸などの低分子化合物の定量分析で多く用いられている質量分析計で測定する方法として、4-ニトロフェニルN-[2'-(ジエチルアミノ)-6,6'-ジメチル-[1,1'-ビフェニル]-2-イル]カルバマート((R)-BiAC)誘導体化試薬を用いた分析法がある³⁾。(R)-BiAC誘導体化試薬は軸不斉骨格を有しており、D,L-アミノ酸を誘導体化してジアステレオマーとすることでHPLCの逆相カラムで各アミノ酸ならびにそのD体とL体を同時に分離することができる(図2)。

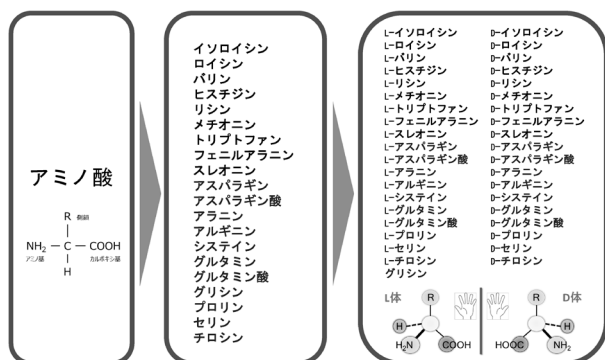


図1 アミノ酸分類の視点

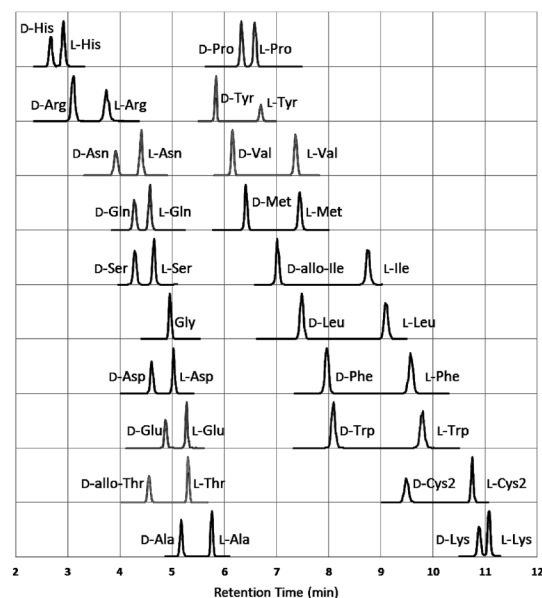


図2 アミノ酸をD体とL体に分離する分析例

本稿では、アミノ酸をL体とD体に分けて見ることで新たに明らかとなったアミノ酸の世界を複数の事例とともに紹介する。

2 新しいおいしさ成分の発見

おいしさに寄与する代表的なアミノ酸は、池田菊苗博士によって1908年に発見されたうま味成分「グルタミン酸ナトリウム」であるが、アミノ酸の種類により異なる呈味を示すことが知られている。さらに、D体とL体でも呈味が異なる。例えば、D体のバリンは強い甘みを示す一方で、L-バリンは苦みを示す。

D-アミノ酸の食品における味を解析した事例として日本酒に着目にした研究がある⁴⁾⁵⁾。老川らは141本の日本酒のD-アミノ酸濃度と味の相関を主成分分析で解析し、D-アラニン、D-グルタミン酸、D-アスパラギン酸が日本酒の味わいと強い相関を示すことや、食品添加物として認可されているDL-アラニンを日本酒に添加するとL-アラニンを添加した時と比較して旨味が向上することを明らかにした。日本酒のD-アミノ酸は発酵製造の過程で微生物がもつアミノ酸ラセマーゼという酵素でL-アミノ酸がD-アミノ酸に変換されることで生成する。日本酒の製造工程や発酵に用いる微生物、原料の違いによりD-アミノ酸の含量に差が生まれ、そのD-アミノ酸が日本酒の味わいに寄与していることが明らかとなった。

日本酒以外にもワインやビール、乳酸菌飲料やチーズなどの発酵食品にも同様にD-アミノ酸が含まれており、私たちは毎日100 mgを超えるD-アミノ酸を摂取しているとされている⁶⁾。D-アミノ酸は味への寄与だけでなく、摂取することでの健康効果も種々報告されており、肌の保湿を高める効果を謳い、D-アミノ酸を多く含む黒酢を原料に用いた美容ドリンクも開発されている。食品に含まれるD-アミノ酸の味との関連やヒトの健康への効果のさらなる解明により美味しく健康な食品の開発につながる事が期待される。

3 新たなバイオマーカーの発見

血液や尿中の成分を測定して病気や健康状態を判別するバイオマーカーとその分析技術が数多く開発されている。アミノ酸を例にとると、血液中のアミノ酸を測定することで、フェニルケトン尿症やメープルシロップ尿症などのアミノ酸代謝異常症を診断する技術や、複数のがんのリスクをスクリーニングする技術がある⁷⁾。しかし、いずれもこれらはアミノ酸のD体とL体を分けずに分析している。人では血液中のアミノ酸のうちD体が占める比率が一般的に1%以下であるためD体とL体を分けなくとも主要なL体のアミノ酸の測定に影響が少なく、L-アミノ酸の変動を捉えることができるためである。

しかし、D体のアミノ酸はごく微量であるが、アミノ酸をD体とL体に分けることで新たなバイオマーカーを発見した事例が近年多く報告されている。代表例の一つに慢性腎臓病の早期診断マーカーがある。木村らは尿中および血液中のアミノ酸をD体とL体に分けることで初めて、慢性腎臓病患者において血液中のD-アミノ酸のうちD-セリンとD-アスパラギンが高値を示すことを発見し、早期診断マーカーとしての有用性を報告した⁸⁾。血液中のL-セリンやL-アスパラギンには変動はなく、D体とL体を分けることで初めて見いだされた。私たちの体はD-アミノ酸を食事や腸内細菌から吸収し、血液中を循環した後に腎臓の糸球体でろ過し排泄している。しかし、腎臓の機能が低下すると腎臓からの排泄率が低くなるため血液中にD-アミノ酸が残り血中濃度が高くなる。このD-アミノ酸の特徴を見だし詳細に解析した結果、D-アスパラギンが腎機能の指標である糸球体濾過率（GFR）のマーカーとなることや、既存の腎機能マーカーであるクレアチニンよりも筋肉量の影響を受けにくいことから、小児における慢性腎疾患の検出に有用であるという報告もある⁹⁾。

慢性腎疾患の他に、種々のがんのマーカーとしての報告もあり、尿中のD-アラニン、D-グルタミン、D-セリン、D- α -アミノ酪酸が大腸がんのマーカーになること、D-グルタミンが大腸がんの進行の指標になる可能性が示されている¹⁰⁾¹¹⁾。その他、アルツハイマー型認知症や統合失調症においてもD-アミノ酸が変動することが報告され¹²⁾、それぞれの変動メカニズム解明の研究が進められている。今後、各種疾患や健康状態におけるD-アミノ酸の機能や変動要因の解明により、新たな治療法や予防法へのD-アミノ酸の活用が期待される。

4 新たな腸内細菌の役割の発見

私たちの体には約100兆個の腸内細菌が生息、共生している。細菌はD-アミノ酸を合成することや、細胞壁のペプチドグリカンの構成要素としてD-アミノ酸を有していることが知られている。腸内細菌においても多くのD-アミノ酸が存在することが知られており、例えば、ヒト糞便中のアスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、プロリンは10~70%がD体であり、D-アミノ酸の存在が無視できないほど多く含まれる¹³⁾。しかし、長い間、腸内細菌におけるD-アミノ酸の役割は未解明であった。笹部らは、腸内細菌が産生するD-アミノ酸がD-アミノ酸オキシダーゼ（DAO）の産生を誘導し、DAOによりD-アミノ酸が代謝される際に発生する抗菌性物質である過酸化水素によりコレラ病原菌から保護することを見だし、腸内細菌叢の恒常性維持に利用していることを初めて報告した¹⁴⁾。また別の研究では、細菌がバイオフィームを形成した際に細菌が自らD-アミノ酸を産生することでバイオフィームを分解しており、細

菌が自らの環境を D-アミノ酸を利用して調節していることも報告されている¹⁵⁾。また、先に述べた腎疾患と関連して、急性腎障害において腸内細菌叢が変化し、D-セリンを多く産生する菌が増加するとともに、血中の D-セリン濃度が高まり、D-セリンが腎臓を保護する作用があることが報告された¹⁶⁾。D-アミノ酸に着目することで、私たちが体のある組織の異常により腸内細菌叢を変化させ有用成分を作らせ、異常組織の修復に利用しているという興味深い知見にたどり着くことができている。

別の腸内細菌に関連した研究において、潰瘍性大腸炎患者の血清中 D-アラニンが健常者よりも有意に低く、D-アラニン投与により炎症性サイトカインを放出するマクロファージの活性が抑制されることで炎症の進行を抑制することが報告された¹⁷⁾。また、D-アミノ酸が腸内の Immunoglobulin A (IgA) 産生の誘導に重要な役割を果たしていることも分かってきた¹⁸⁾。このように腸内細菌が産生する D-アミノ酸を腸の免疫環境の調節に利用しており、D-アミノ酸により腸の免疫環境をコントロールできる可能性が示唆され、疾患の新しい治療法の開発につながることが期待される。

5 アミノ酸の調節機能の新しい発見

2020 年 12 月に地球に帰還した JAXA の探査機「はやぶさ 2」が、小惑星「リュウグウ」の砂を持ち帰り、その砂からアミノ酸が発見されたことから、宇宙にもアミノ酸が存在していることが明らかになった¹⁹⁾。さらに、この砂に含まれるアミノ酸の D 体と L 体は 1:1 の割合で存在していた。地球のアミノ酸の由来については、宇宙から飛来する隕石などにより地球に持ち込まれた説（地球外起源説）と、地球上で作られた説（原始大気起源説、原始海洋起源説など）がある。しかし、なぜ私たちの体には L-アミノ酸が多く、D-アミノ酸が少ないのか？についてはまだ謎のままである。

D-アミノ酸は食べものや腸内細菌から取り込まれ、D-アミノ酸を選択的に代謝する酵素（D-アミノ酸酸化酵素や D-アスパラギン酸酸化酵素）により代謝されることと、尿から積極的に排泄されることで L-アミノ酸が多く、D-アミノ酸が少ない状態が維持されていることは知られている。さらにその詳細に迫る最近の研究を紹介する。ヒトを含む哺乳類では、母親の胎内にいる胎児にも D-アミノ酸は存在しているが、胎児には D-アミノ酸を代謝する酵素が発現しておらず、母親のもつ D-アミノ酸代謝酵素によって代謝されている。出生後、胎児が腸内細菌に感染していくと共に、血中に取り込まれる D-アミノ酸が増えていくが、それと同時に D-アミノ酸酸化酵素が発現し D-アミノ酸を代謝し、血中濃度を低く保つようになることが明らかとなった¹³⁾。D-アミノ酸は神経伝達、学習や記憶への機能も知られており、

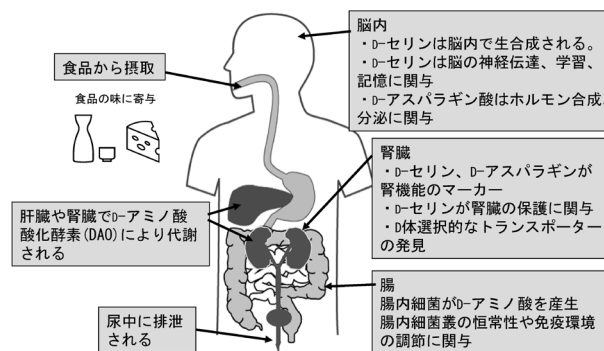


図3 D-アミノ酸の由来と機能

胎児期での発達への影響や、成長における役割のさらなる解明も期待される。

また近年、アミノ酸を取り込むトランスポーターにも D 体 L 体の選択性があることが分かってきた。低分子アミノ酸トランスポーターの 1 種である ASCT2 が腎臓において D-セリンのトランスポーターとして機能することが明らかとなり²⁰⁾、D-アミノ酸の体内動態の制御機構の解明につながると期待されている。D-アミノ酸に着目することで、生命が D-アミノ酸の体内濃度を厳格に調節し利用している様子が見えてきたが、D-アミノ酸と L-アミノ酸を生命がどのように使い分けているのかを解明することで、生命科学全般に新たな視点を提供することが期待される。

6 おわりに

様々な領域でアミノ酸を D 体と L 体分けて解析した研究ならびにその研究で発見された新しい知見を紹介した。D-アミノ酸の視点から L-アミノ酸の世界を改めて見直すと L-アミノ酸についても新たな解析ポイントに気づいたり、新たな発見につながったりすることがある。皆さんの研究領域でも見方を変えることで新たな発見につながることもあるかもしれない。その見方を変える手段の一つが本誌の共通テーマである分析技術である。新しい分析技術でこれまで分けられなかったものを分けられるようにする、見えなかったものを見えるようにすることで、私たちは新たな環世界を獲得し新たな科学的知見を獲得することができるのである。本特集の趣旨である異分野への視点もその一つである。異分野からの視点を学び、自分の研究を見つめ直すことで新しい気づきが得られることがある。本特集もその役割を果たすことができればと思う。

文 献

- 1) エクスキュル, クリサート著, 日高敏隆, 羽田節子訳: “生物から見た世界”, p. 45 (2005), (岩波書店).
- 2) K. Hamase, A. Morikawa, S. Etoh, Y. Tojo, Y. Miyoshi, K. Zaito: *Anal. Sci.*, **25**, 961 (2009).
- 3) M. Harada, S. Karakawa, N. Yamada, H. Miyano, K.

- Shimbo : *J. Chromatogr. A*, **1593**, 91 (2019).
- 4) 老川典夫 : 日本醸造協会誌, **110**, 189 (2015).
 - 5) H. Kato, M. Kanauchi : *Methods Mol. Biol.*, **2851**, 125 (2024).
 - 6) G. L. Marcone, E. Rosini, W. Crespi, L. Pollegioni : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **104**, 555 (2020).
 - 7) Y. Miyagi, M. Higashiyama, A. Gochi, M. Akaike, T. Ishikawa, T. Miura, N. Saruki, E. Bando, H. Kimura, F. Imamura, M. Moriyama, I. Ikeda, A. Chiba, F. Oshita, A. Imaizumi, H. Yamamoto, H. Miyano, K. Hiromoto, O. Tochikubo, T. Mitsushima, M. Yamakado, N. Okamoto : *PLoS One*, **6**, e24143 (2011).
 - 8) A. Taniguchi, M. Kawamura, S. Sakai, S. Kimura-Ohba, Y. Tanaka, S. Fukae, R. Tanaka, S. Nakazawa, K. Yamanaka, M. Horio, S. Takahara, N. Nonomura, Y. Isaka, R. Imamura, T. Kimura : *Kidney Int. Rep.*, **8**, 1192 (2023).
 - 9) T. Morishita, N. Nishizaki, S. Taniguchi, S. Sakai, T. Kimura, M. Mita, M. Nakagawa, A. Endo, Y. Ohtomo, M. Yasui, T. Shimizu, J. Sasabe : *Amino Acids*, **56**, 38 (2024).
 - 10) A. Uifălean, M. Iacobescu, L. C. Salanță, S. C. Hegheș, R. C. Moldovan, C. A. Iuga : *Pharmaceuticals (Basel)*, **18**, 705 (2025).
 - 11) W. Deng, C. Ye, W. Wang, R. Huang, C. Guo, Y. Pan, C. Sun : *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **1245**, 124270 (2024).
 - 12) L. Pollegioni, N. Kustrimovic, L. Piubelli, E. Rosini, V. Rabattoni, S. Sacchi : *FEBS J.*, **2025**, 1.
 - 13) Y. Gonda, A. Matsuda, K. Adachi, C. Ishii, M. Suzuki, A. Osaki, M. Mita, N. Nishizaki, Y. Ohtomo, T. Shimizu, M. Yasui, K. Hamase, J. Sasabe : *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **120** (15), e2300817120 (2023).
 - 14) J. Sasabe, Y. Miyoshi, S. R. Nahoum, T. Zhang, M. Mita, B. M. Davis, K. Hamase, M. K. Waldor : *Nat. Microbiol.*, **1**, 16125 (2016).
 - 15) S. N. Vahdati, H. Behboudi, S. A. Navasatli, S. Tavakoli, M. Safavi : *Microbiol Res.*, **263**, 127107 (2022).
 - 16) Y. Nakade, Y. Iwata, K. Furuichi, M. Mita, K. Hamase, R. Konno, T. Miyake, N. Sakai, S. Kitajima, T. Toyama, Y. Shinozaki, A. Sagara, T. Miyagawa, A. Hara, M. Shimizu, Y. Kamikawa, K. Sato, M. Oshima, S. Yoneda-Nakagawa, Y. Yamamura, S. Kaneko, T. Miyamoto, M. Katane, H. Homma, H. Morita, W. Suda, M. Hattori, T. Wada : *JCI Insight.*, **3** (20), e97957 (2018).
 - 17) S. Umeda, T. Sujino, K. Miyamoto, Y. Yoshimatsu, Y. Harada, K. Nishiyama, Y. Aoto, K. Adachi, N. Hayashi, K. Amafuji, N. Moritoki, S. Shibata, N. Sasaki, M. Mita, S. Tanemoto, K. Ono, Y. Mikami, J. Sasabe, K. Takabayashi, N. Hosoe, T. Suzuki, T. Sato, K. Atarashi, T. Teratani, H. Ogata, N. Nakamoto, D. Shiomi, H. Ashida, T. Kanai : *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.*, **16**, 1011 (2023).
 - 18) K. Matsumoto, A. Noguchi, F. Miyamoto, R. Inoue, H. Hirai, T. Miwa, Y. Nakagawa, Y. Higashimura : *Food Chem.*, **487**, 144719 (2025).
 - 19) A. Furusho, C. Ishii, T. Akita, M. Oyaide, M. Mita, H. Naraoka, Y. Takano, J. P. Dworkin, Y. Oba, T. Koga, K. Fukushima, D. Aoki, M. Hashiguchi, H. Mita, Y. Chikaraishi, N. Ohkouchi, N. O. Ogawa, S. Sakai, D. P. Glavin, J. E. Elsil, E. T. Parker, J. C. Aponte, H. L. McLain, F. Orthous-Daunay, V. Vuitton, R. Thissen, C. Wolters, P. Schmitt-Kopplin, A. Ruf, J. Isa, N. Hertkorn, J. M. Eiler, T. Yoshimura, H. Sugahara, H. V. Graham, Y. Furukawa, D. Araoka, S. Tanaka, T. Yoshikawa, F. Kabashima, K. Sasaki, H. Sato, T. Yamazaki, M. Onose, M. Morita, Y. Kimura, K. Kano, J. Aoki, K. Fujishima, S. Nomura, S. Tachibana, T. Nakamura, T. Noguchi, R. Okazaki, H. Yabuta, H. Yurimoto, K. Sakamoto, T. Yada, M. Nishimura, A. Nakato, A. Miyazaki, K. Yogata, M. Abe, T. Usui, M. Yoshikawa, T. Saiki, S. Tanaka, F. Terui, S. Nakazawa, T. Okada, S. Watanabe, Y. Tsuda, K. Hamase : *J. Chromatogr. Open*, **5**, 100134 (2024).
 - 20) P. Wiriyasermkul, S. Moriyama, M. Suzuki, P. Kongpracha, N. Nakamae, S. Takeshita, Y. Tanaka, A. Matsuda, M. Miyasaka, K. Hamase, T. Kimura, M. Mita, J. Sasabe, S. Nagamori : *Elife.*, **12**, RP92615 (2024).



唐川 幸聖 (KARAKAWA Sachise)

味の素株式会社バイオ・ファイン研究所研究管理部企画・推進グループ (〒210-8681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1)。九州大学大学院薬学部医療薬科学専攻博士後期課程修了。PhD, 薬剤師。《現在の研究テーマ》イノベーションを生み出すR&D組織マネジメントと変革。《趣味》ジョギング, 読書。

ペプチド吸着制御 LC の開発と創薬への貢献

合 田 竜 弥

1 はじめに

ペプチド及びタンパク質は、遺伝子の最終産物であり、細胞の形態や機能を直接制御している。個々のペプチド及びタンパク質の発現量や翻訳後修飾等は、様々な疾患によって細胞の形態や機能が変化する過程において変化する。これらの変化は、疾患の早期診断の指標として、又、創薬における患者の層別化、薬効及び毒性評価等のためのバイオマーカー等として利用可能である。また、疾患の原因解明の為に評価され、さらには医薬品開発研究における新しい創薬モダリティとしても活用されている。

医薬品及び内因性としてのペプチド及びタンパク質の定量には、特異的な抗体を用いるリガンド結合法 (ligand binding assay, LBA) が一般的に用いられている。しかし、抗体作成の難しさ、抗体の交差性等の問題により、LBA 法では定量出来ない場合も存在する。一方、liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) 法は、 m/z 及び溶出時間の組み合わせによる高い選択性を有しており、例えば LBA 法では測定困難な 1 アミノ酸残基違いのペプチド及びタンパク質を容易に分離定量出来る。また、継続的な技術的發展は、MS 装置自体の感度を年々向上させ、LBA 法に匹敵又は凌駕する定量感度を達成可能としている。こうした背景から、LC/MS を用いた標的ペプチド及びタンパク質の高感度定量に加えて、1 万近いタンパク質を一度に検出可能な網羅的な測定 (プロテオミクス) 等も精力的に実施されている。

2 ペプチド及びタンパク質の固体に対する吸着能の相転移現象の発見

LC/MS を用いたペプチド及びタンパク質量を実施する際に注意すべき点の一つが、ペプチド及びタンパク質の容器等の固体に対する吸着である。低分子有機化合物の場合には、その吸着を回避する為に有機溶媒を添加する方法が一般的に用いられている。そこで、アミノ酸残基数 40、分子量 4696 のウロコルチンをモデルペプチドとして用いて、様々な有機溶媒がウロコルチンの吸着に与える影響を評価した。その結果、図 1 左に示すようにウロコルチンの固体に対する吸着能が、各有機溶媒が示す臨界含量 (臨界値, $f_n=1$) を境に急激かつ可逆的に変化 (相転移) することを見いだした¹⁾。つまり、ペプチド及びタンパク質は、臨界値より小さい有機溶媒含量 ($f_n<1$) の溶液中ではその吸着能を発揮できるが、臨界値より大きい有機溶媒含量 ($f_n>1$) の溶液中では吸着能を喪失した状態で存在する。相転移現象の最も身近な例として、水の三相 (固相・液相・気相) が挙げられるが、今回のペプチド及びタンパク質の吸着能の相転移は、図 1 右に示すようなキュリー温度を臨界値とする磁性の相転移と同様の現象と考えられる。

この吸着能の相転移を引き起こす要因は、ウロコルチン溶液を用いた CD スペクトル解析から、有機溶媒によって惹起されるペプチド及びタンパク質の高次構造変化であることが確認された。また、この高次構造変化が可逆的であることも確認され、吸着能の変化は可逆的である。

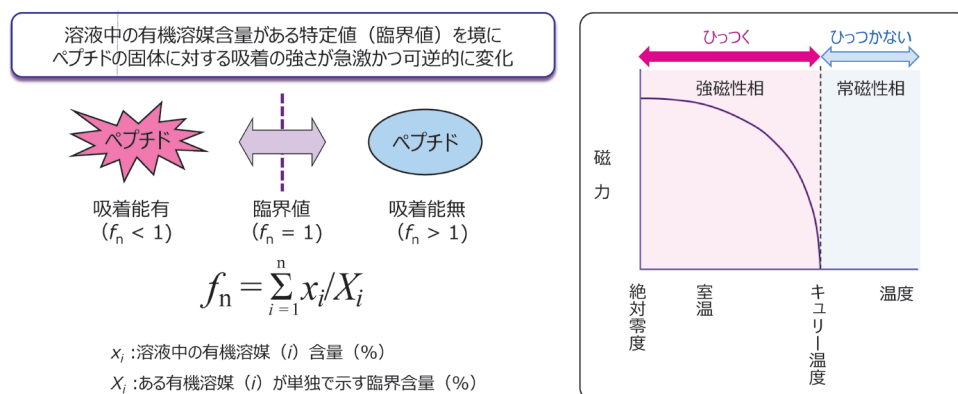


図 1 ペプチドの固体に対する吸着能 (左) 及び磁性の相転移 (右)

あることが示唆された。さらに、吸着能の相転移現象は、様々な大きさのペプチド及びタンパク質において確認され、その普遍性が示された²⁾。

一方で、この吸着能の相転移現象は、LC 測定で得られるクロマトグラムに大きな影響を与えていることが明らかとなった。例えば、ペプチド及びタンパク質を定量的に扱うために $f_n > 1$ を示す溶液を用いてペプチドを LC に導入する場合、カラムに保持したペプチドピーク（以後、保持ピーク）だけでなく、カラムに全く保持されないペプチドピーク（以後、非保持ピーク）を同時に発生させる。これは、 $f_n > 1$ を示す溶液中ではペプチドは吸着能を喪失しており、この溶液組成が維持されたままカラムを通過する場合、ペプチドはカラムに保持されないまま非保持ピークとして溶出する一方、後ろから流れてくる移動相とペプチド溶液が混合され $f_n < 1$ を示す溶離液中に存在することとなったペプチドは吸着能を回復させてカラムに保持できるようになり、保持ピークとして溶出されると考えられる。

この非保持ピークの発生は、ペプチド定量における大きな問題を発生させる。つまり、非保持ピークの発生は、本来よりも小さな保持ピークを発生させて定量感度を低下させる。また、非保持ピークの発生が、保持ピーク強度（面積）の再現性を低下させ、定量値のバラツキの原因となることも確認されている³⁾。そのため、精度の高い測定を実施するためには、非保持ピークを発生させない程度の極微量の試料を導入する、又は、容器等への吸着を回避しつつ非保持ピークを発生させない臨界値近傍の有機溶媒含量の溶液を導入用溶液として使用する

必要がある。ただし、前者の場合、試料導入料が制限されるために高感度化が難しく、後者の場合、臨界値の大きく異なる複数のペプチドを非保持ピーク又は吸着による損失なく定量することが難しい。つまり、精度の高い複数ペプチドの高感度定量を成立させることが出来ないという課題に直面することとなる。

さらに、注意すべき点として、非保持ピークが発生した場合でも保持ピークの形状は良好であることが多く、非保持ピークが発生していることに気が付かない点が挙げられる。これは、LC/MS を用いた生体試料測定においては、MS 内部の無駄な汚染を回避するために非保持ピークが発生する前後の溶離液を MS 内部導入しないことが一般的であり、そもそも検出されていないためである。また、例え MS に導入した場合でも、多数の夾雑成分及びマトリックス効果等によって正確な非保持ピークの検出は困難である可能性が高い。このように、目的ペプチドが 1 本のピークとして確実に溶出されている確証を得ることが難しいことから、このような問題点を全て解決可能な分析システムの構築が、正確なペプチド定量のために必要であった。

3 ペプチド吸着制御 LC の開発

従来の LC（標準 LC）を用いる場合のペプチド定量における問題点を解決するために、ペプチド及びタンパク質の吸着能の相転移現象を利用したペプチド吸着制御 LC（peptide adsorption-controlled LC, PAC-LC）を開発した¹⁾⁴⁾。図 2 に示す通り、PAC-LC は、標準 LC におけるオートサンプラーとカラムの間にポンプを 1 台加え

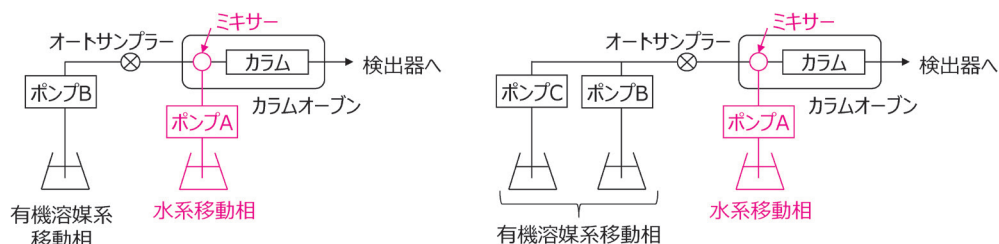


図2 ペプチド吸着制御 (peptide adsorption-controlled, PAC)-LC : 2液 PAC-LC (左), 3液 PAC-LC (右)

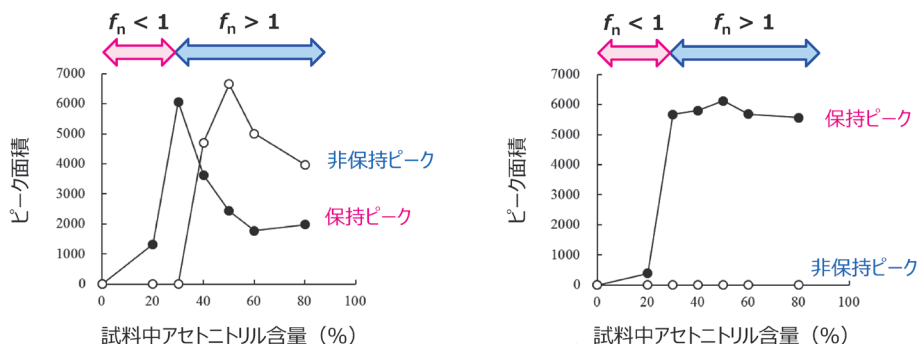


図3 アセトニトリル含量の異なるウロコリン溶液を測定した時に得られるカラム保持及び非保持のピーク面積；標準 LC (左), PAC-LC (右)

た構成である。これにより LC に導入されたペプチド溶液に対してカラム直前で水系移動相を混合させることが可能となり、ペプチド及びタンパク質を含む溶離液中の有機溶媒含量を強制的に $f_n > 1$ まで低下させることが可能となる。その結果として、吸着能を急激に回復させたペプチドはカラムに保持することが可能となる。

実際に、標準 LC 及び PAC-LC を用いて溶液中アセトニトリル含量の異なるウロコリン溶液を測定した時に得られるピーク面積値を図 3 に示す。PAC-LC を用いた場合には非保持ピークは確認されず、また、 $f_n > 1$ のペプチド溶液を導入した場合に、ほぼ一定のピーク面積値が得られた。この結果は、 $f_n > 1$ の溶液を用いることで定量的な操作も可能であることも示唆している。さらに、非保持ピークを発生させないために、精度の高い測定が可能であることも確認されている。したがって、PAC-LC は、非保持ピークの発生を抑制することにより感度及び測定精度の損失を回避可能な LC システムであり、また、操作時の定量性を確保するために $f_n > 1$ を示す溶液を用いることを許容可能な LC システムと言える。

PAC-LC を用いることで得られるその他のメリットとしては、PAC-LC への試料導入量が理論上無制限であることが挙げられる。これは、保持時間とグラジエント勾配との間に認められるべき乗則から、イソクラティック溶出条件下では、カラムに保持したペプチドはカラム内を移動しない（保持時間は無限大となる）と考えられることに基づく²⁾。つまり、カラムへの確実な保持が可能

な条件下でペプチド試料の導入を続ける限り、カラムでのペプチド濃縮が可能となる。実際に、試料導入量を 10 mL 迄増加させた場合に、グラジエント開始から同じ保持時間のまま導入量に比例した高感度化が可能であることが示されている³⁾。

さらに、PAC-LC では、試料溶液中の有機溶媒含量にかかわらず複数ペプチドを再現性高く同時測定出来るメリットを有している。標準 LC では、先に述べた通り、臨界値の異なるすべてのペプチドの吸着及び非保持ピークの発生の両方を同時に回避することは困難である。一方、PAC-LC では、すべてのペプチドの固体に対する吸着を回避可能な溶液を用いつつ、PAC-LC における初期混合比、つまり有機溶媒含量を全てのペプチドが保持可能な条件に設定することですべてのペプチドをカラムに保持した各 1 本のピークとして検出することが可能である。実際に、6 種のトリプシン消化ペプチド断片を、アセトニトリル含量が 10, 50, 80 % の溶液を用いて調製し、標準 LC 及び PAC-LC で測定した時に得られるピーク面積値を図 4 上に示す。PAC-LC では、保持の強い二つのペプチド（Pep5 及び 6）において、10 % アセトニトリル含量を用いた場合に、LC 導入前の吸着によるピーク面積の損失が確認される以外、アセトニトリル含量にかかわらずほぼ一定のピーク面積が得られている。一方、標準 LC を用いた場合、6 種すべてのペプチドに共通した最適なアセトニトリル溶液はなく、吸着および非保持ピーク発生による両方の損失なく同時定量することが困難であることが示されている。一方、図 4 下は、

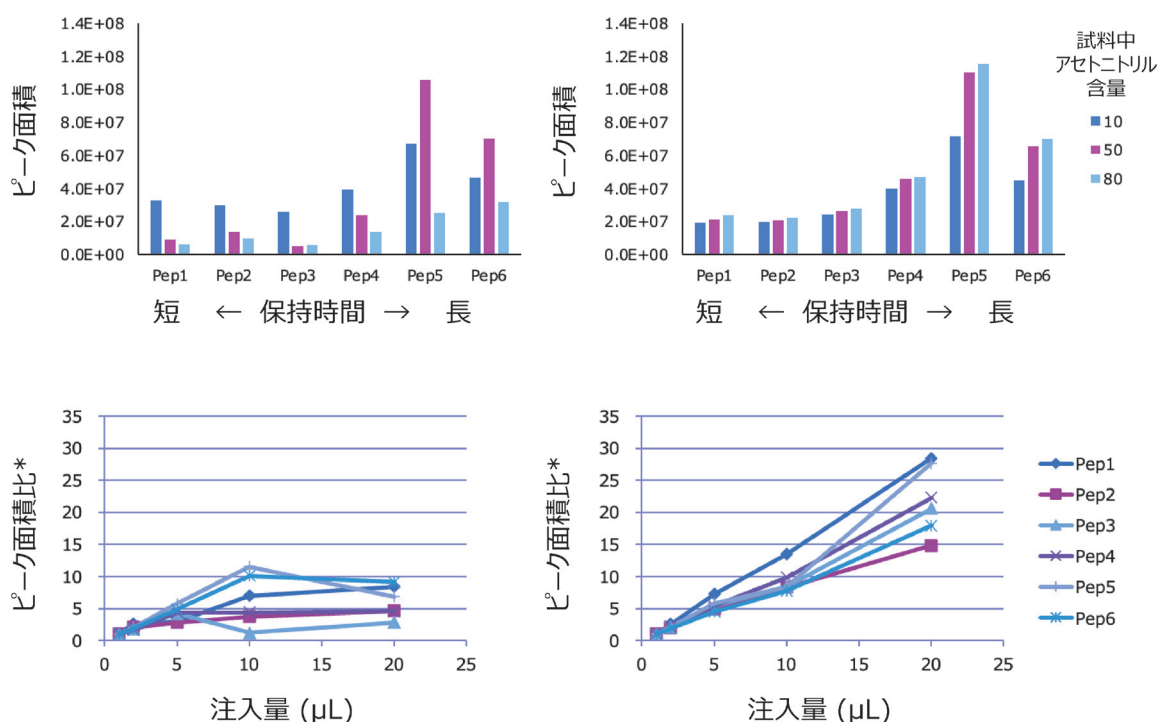


図 4 アセトニトリル含量の異なるペプチド混合溶液を測定した時に得られるピーク面積（上段）及び 50 % アセトニトリルのペプチド溶液の導入量を変化させた時のピーク面積比；標準 LC（左）、PAC-LC（右）

50 % アセトニトリル含量ペプチド溶液を 1, 2, 5, 10, 20 μL と変化させて導入した時に得られるピーク面積から算出したピーク面積比 (1 μL 基準) を示す。標準 LC では、保持の弱い 4 種ペプチドについては 5 μL 程度、保持の強い 2 種ペプチドについては 10 μL 程度でピーク面積が頭打ちになっているが、PAC-LC では、導入量に比例したピーク面積が得られており、試料導入量増加による高感度化が可能であることが明確に示されている。

4 PAC-LC の創薬への貢献

抗体医薬品は、ヒトの生体防御に寄与するタンパク質である免疫グロブリンを遺伝子組み換え技術等を応用して作成したバイオ医薬品である。近年では、こうした抗体にリンカーを介して強力な細胞毒性を有する低分子化合物を結合させた抗体薬物複合体 (antibody drug conjugate, ADC) 等の様々な抗体医薬品の開発が盛んに行われている。この ADC の薬物動態プロファイル評価のために、ADC (ペイロードが一つ以上付加している抗体医薬品)、トータル抗体医薬品 (ペイロードがすべて外れた抗体医薬品を含む全抗体医薬品) 及び遊離ペイロードの測定が必要とされている。ADC 及びトータル抗体医薬品の定量には通常 LBA 法が用いられているが、ADC を測定するために使用されるペイロードに対する特異的抗体は、ADC のペイロード数の違いを区別出来ないために、ADC の生体内変換により引き起こされる薬物抗体比 (drug antibody ratio, DAR) を算出することは困難である。DAR は ADC のクリアランスに影響を与え、安全性と有効性に影響を与える ADC の重要な品質特性の一つであり、積極的な評価が望まれている。そこで、LC/MS を用いた DAR 評価が様々な形で実施されている。その一つが、抗原を用いた免疫沈降 (immunoprecipitation, IP) により精製した生体試料を用いて ADC をインタクト測定する方法⁵⁾であり、その他にも、IP により精製した生体試料中の ADC のペイロードを酵素等で遊離させてペイロードを定量する方法⁶⁾等がある。前者の場合、高感度化が難しいという課題が、後者の場合、代謝されたリンカー部位を評価することが困難という課題がある。そこで、DAR のより詳細な評価のために、トリプシン消化法によって得られる個々のペイロード付加ペプチド断片を定量する方法も検討されている。この評価では、複数のペプチドの高精度かつ高感度な同時定量を必要とすることから、PAC-LC が極めて大きな威力を発揮することとなる。

また、PAC-LC とトリプシン消化法との組み合わせは、特異的な抗体が存在しない、または LBA 法で正確な定量が困難な内因性タンパク質バイオマーカー定量等においても積極的に活用されている。ここで、タンパク濃度算出に用いるトリプシン消化ペプチド断片は最終的に一つに決定されるが、定量法開発の過程においては、タン

パク質の消化効率、トリプシン消化ペプチド断片の安定性、夾雑ピークとの重なり等のリスクを考慮すると、複数のトリプシン消化ペプチド断片を測定しておくことが望ましいためである。このように、PAC-LC を利用することにより、効率的なタンパク質定量法開発に大きく貢献することが可能である。

一方、トリプシン消化法を用いないインタクトペプチド定量法開発においても PAC-LC は大きく貢献している。例えば、アンジオテンシン (以後、Ang と略) は、血圧調節を担うレニン-アンジオテンシン系において産生されるペプチド群であり、Ang I, II, III, IV, A, 1-9, 1-7 等が存在する。特に、Ang II は、Ang II 受容体の AT1 に結合することで血管を収縮させ血圧を上昇させる等の作用を有するため、創薬の標的となっている。一方、腎臓や心臓等の各臓器における Ang の役割も注目されており、生体試料中の Ang の正確な測定が病態の解明や診断等のために必要とされている。Ang は 6~10 残基のアミノ酸で構成されており、アミノ酸配列の相同性が高いことから個々に特異的な抗体を作成するには限界がある。例えば、ある市販の Ang II 測定キットで用いられている抗体は Ang I に対する交差性を 4 % 程度示す。この交差性は、生体試料を用いた際の測定誤差として考えると一見問題ないようにも考えられる。しかし、血漿中 Ang I が Ang II よりも 10 倍以上高い濃度で存在する場合も考えると、このキットで得られる Ang II の濃度値は、Ang I 濃度の影響を大きく受けている可能性が高い。一方、LC/MS 法では、その高い選択性によりこうした問題は発生しない。実際に、市販ラット血漿から固相抽出法を用いて Ang を溶出し、溶出液をそのまま PAC-LC に導入することで、Ang A を除くすべての Ang を同時検出可能であった。この測定においても、PAC-LC を用いることで、固相からの溶出液をそのまま大量に導入可能となり、乾固及び再溶解の手間や影響を無くすことで前処理時間の短縮による評価の高速化が可能となっている。

5 最後 に

ペプチド及びタンパク質定量において標準 LC と比較して様々な利点を有する PAC-LC は、医薬品及び内因性バイオマーカーとしてのペプチド及びタンパク質定量において極めて重要なツールである。既に医薬品のバイオトランスフォーメーション評価やプロテオミクスにも展開され、さらに、ペプチドと同様の吸着能の相転移現象を示すオリゴ核酸医薬品の定量においても活用されている。一方で、現在においても、さらなる高感度化が求められており、装置面での技術的發展と、装置面以外での技術的發展、例えば、血漿中に大量に存在する免疫グロブリン及びアルブミン等の夾雑タンパク質から目的のペプチド及びタンパク質を効率的に分離するための新しい

前処理法の開発等への期待も高い。今後も、こうした関連技術のさらなる発展と共に PAC-LC が疾患やバイオマーカーに関する新規知見の獲得に貢献することを期待したい。

文 献

- 1) R. Goda, K. Sudo : *Biomed. Chromatogr.*, **21**, 1005 (2007).
- 2) R. Goda, H. Masumoto, O. Okazaki, K. Sudo : *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 857 (2008).
- 3) R. Goda, K. Sudo : *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 81 (2008).
- 4) R. Goda, N. Kobayashi : *J. Chromatogr B*, **895–896**, 137 (2012).
- 5) N. Hashii, Y. Haruyama, R. Hirayama, R. Kajita, Y. Kishino, T. Mochizuki, K. Inoue, R. Goda, M. Hoshino, I. Kuroiwa, H. Aikawa, N. Ueda, K. Nagumo, Y. Oda, Y. Saito, A. Ishii-Watabe : *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **1258**,

124608 (2025).

- 6) H. Habara, H. Okamoto, Y. Nagai, M. Oitate, H. Takakusa, N. Watanabe : *Biopharm Drug Dispos*, **44**, 380 (2023).



合田 竜弥 (GODA Ryoya)

Future Peak 株式会社 (〒211-0065 神奈川県川崎市中原区今井仲町 3-48). 東京大学大学院薬学系研究科薬学専攻修士課程修了. 博士 (薬学). 《現在の研究テーマ》生体試料中ペプチド・タンパク質定量の高感度化. 《主な著書》公益社団法人日本分析化学会 液体クロマトグラフィー研究懇談会編: “LC/MS, LC/MS/MS Q&A100 獅子の巻”. 中村洋監修 (2021). 《趣味》スポーツ, スポーツ観戦.

E-mail : goda.ryoya@future-peak.co.jp

原 稿 募 集

ロータリー欄の原稿を募集しています

内容

談話室：分析化学，分析方法・技術，本会事業（会誌，各種会合など）に関する提案，意見，質問などを自由な立場で記述したもの。

インフォメーション：支部関係行事，研究懇談会，国際会議，分析化学に関連する各種会合の報告，分析化学に関するニュースなどを簡潔にまとめたもの。

掲示板：分析化学に関連する他学協会，国公立機関の主催する講習会，シンポジウムなどの予告・お知らせを要約したもの。

執筆上の注意

- 1) 原稿量は 1200～2400 字（但し，掲示板は 400

字）とします。2) 図・文献は，原則として使用しないでください。3) 表は，必要最小限にとどめてください。4) インフォメーションは要点のみを記述してください。5) 談話室は，自由投稿欄ですので，積極的発言を大いに歓迎します。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]

迅速かつ省力的な高病原性鳥インフルエンザ遺伝子検査法の開発

宮澤 光太郎

1 はじめに

新型コロナウイルス感染症が世界中で流行した結果、診断法として用いられる遺伝子検査や抗原検査といった用語が、広く一般に知られるようになった。また、冬季に流行する季節性インフルエンザの原因である A 型インフルエンザウイルスも多くの人々に馴染みのある言葉ではないだろうか。図 1 に示すように、ウイルス学的にはインフルエンザウイルスは A～D 型の 4 種類に分類される。

この中でも A 型インフルエンザウイルスの宿主域は特に広く、ヒトを含む多くの哺乳類と鳥類に感染する。B 及び C 型インフルエンザウイルスは主にヒトに感染し、D 型インフルエンザウイルスは 2010 年代にウシやブタから分離された比較的新しいウイルスである。A 型インフルエンザウイルスの自然宿主は水禽類（ガンやカ

モといった水鳥）と考えられており、鳥類が感染するインフルエンザウイルスは A 型インフルエンザウイルスのみである¹⁾。すなわち、本稿のテーマである鳥インフルエンザ（avian influenza, AI）は A 型インフルエンザウイルスが引き起こす鳥類の感染症である。

図 2A に示すように、A 型インフルエンザウイルスは 8 分節の 1 本鎖マイナス鎖 RNA をゲノムとし、ウイルス表面には標的細胞への侵入と複製したウイルスの細胞からの出芽に重要なヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）の 2 種類のタンパク質を持つ。この HA と NA の抗原性の違いによって、HA は 18 亜型（H1～H18）、NA は 11 亜型（N1～N11）が知られている。コウモリから分離された H17N10 亜型及び H18N11 亜型ウイルスを除いたすべての HA（1～16）と NA（1～9）亜型の組み合わせウイルスが水禽類から分離されている²⁾。一般に A 型インフルエンザウイルスは、HA と NA の組み合わせを用いて H1N1 や H5N1 のように表現される。特筆すべき点として、インフルエンザウイルスは分節 RNA ゲノムを有しているため、異なる 2 種類のウイルスが同一細胞に同時感染した場合、遺伝子再集合（re-assortment）が生じる可能性がある。この過程によ

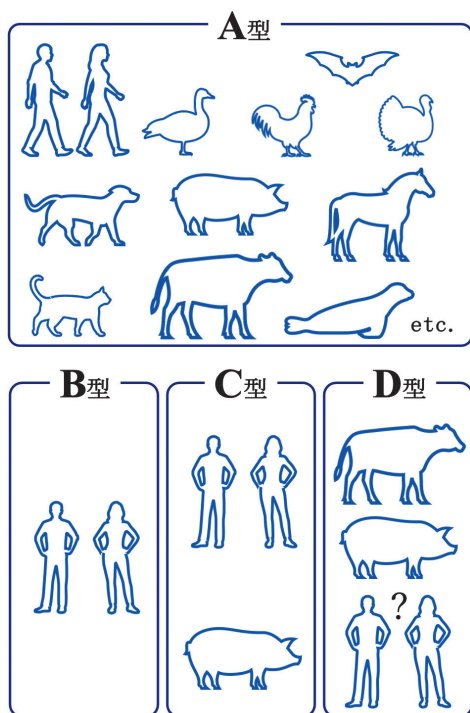


図1 各種インフルエンザウイルスの宿主範囲

インフルエンザウイルスは、A～Dの四つの型に分類される。A型インフルエンザウイルスの宿主範囲は広く、近年ではウシでの感染も確認されている。D型インフルエンザウイルスは、2010年代に発見された比較的新しいウイルスである。

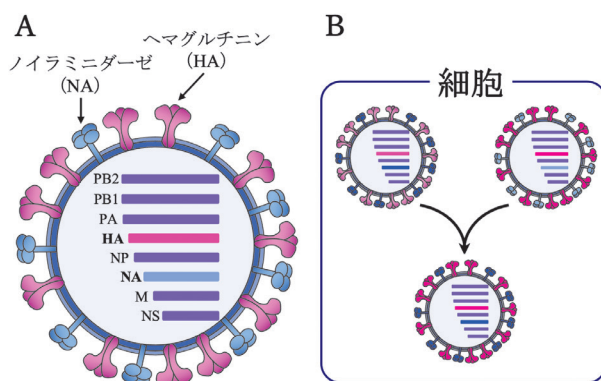


図2 A型インフルエンザウイルスの構造と遺伝子再集合

A型インフルエンザウイルスは、8本の分節RNAゲノムを有し、ウイルス表面には細胞への侵入と細胞からの出芽に必要なヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）を発現する（A）。一つの細胞に異なる分節RNAゲノムの組み合わせを持つ2種類のウイルスが同時に感染すると、新たな分節RNAの組み合わせを持つ遺伝子再集合ウイルスが産生される（B）。図2Bは、赤いHAと青いNAを持つ新たなウイルスの出現を示している。

り、従来に存在しなかった新たな分節ゲノムの組み合わせを持つウイルスが出現することがある（図 2B）³⁾。

先に述べたように、野生水禽類は A 型インフルエンザウイルス（以下、鳥インフルエンザウイルスという）の自然宿主であり、ほとんどの場合は臨床症状を呈さない不顕性感染が成立し、ウイルスと共生関係を保っている（図 3A）。野生水禽に由来する鳥インフルエンザウイルスは、ガン・カモ類を家畜化した水生家禽（アヒルやガチョウ）に伝播し、やがて陸生家禽（鶏や七面鳥など）にも感染を拡大と考えられている。これらの病原性の低い鳥インフルエンザ（low pathogenicity avian influenza, LPAI）ウイルスが陸生家禽群内で感染を繰り返す間に適応変異を起こし、鶏や七面鳥に致死性の疾患を起こすようになったものが高病原性鳥インフルエンザ（high pathogenicity avian influenza, HPAI）ウイルスである⁴⁾。これまでのところ、HPAI ウイルスの HA 亜型は H5 と H7 に限られており、他の HA 亜型ウイルスでは知られていない。鳥インフルエンザウイルスの標的細胞への感染には HA タンパク質の開裂（酵素による切断）が重要な役割を果たす。LPAI ウイルスの HA タンパク質の開裂部位には塩基性アミノ酸が一つしか含まれ

ないため、トリプシン様酵素のみが切断可能である。そして、これらの酵素が鶏の呼吸器や消化管の上皮細胞にしか存在しないため、ウイルスの感染と増殖はその部位に限定される（図 3B）。一方、HPAI ウイルスの HA タンパク質の開裂部位には変異に伴って複数の塩基性アミノ酸が蓄積しており、フリン（Furin）など宿主細胞に広く発現するタンパク質分解酵素によって切断可能である⁵⁾。このため、HPAI ウイルスは全身の様々な臓器で増殖し、重篤な全身感染を引き起こす（図 3C）。現在世界的な流行を引き起こしている H5 亜型 HPAI ウイルスは、1996 年に中国広東省で分離されたウイルス（A/goose/Guangdong/1/96 H5N1）に由来し、その HA 遺伝子を受け継いでいることから Gs/Gd 系統と呼ばれている。1997 年に香港で初のヒト死亡事例が報告されて以降、2025 年の米国におけるウシからヒトへの感染事例に至るまで散発的にヒトへのスピルオーバーが確認されており、人獣共通感染症としても認識されている⁶⁾。

HPAI ウイルスは日本での越冬を目的とする渡り鳥によって毎年秋頃に持ち込まれており、家禽農場における HPAI の発生は秋から翌年の春先までに集中する。気温の上昇に伴い渡り鳥がシベリアや極東ロシア、アラスカといった高緯度地域に分布する繁殖地に戻り始めると家禽農場における HPAI の発生も収束に向かう。HPAI が季節性に発生することは、夏季（6～8 月）には一度も家禽農場での HPAI の発生が報告されていないことや、同時期に国内の死亡野鳥からも HPAI ウイルスが検出されたことが無い事実から支持される⁷⁾。我が国においては、2022/23 シーズン（秋から翌年春にかけての鳥インフルエンザ流行期をシーズンという）に過去最大の発生数（26 道県 84 事例）を記録し、約 1771 万羽の家禽が感染拡大を防ぐために淘汰された。結果として、飼養羽数の大幅な減少による鶏卵不足と価格の高騰を招くこととなった。2024/25 シーズンも愛知県や千葉県の実鶏密集地域における連続発生によって被害が拡大し、約 932 万羽が殺処分されている。現在、我が国では感染予防を目的とした家禽への HPAI ワクチン接種は禁止されているため、発生予防対策の基本はバイオセキュリティと飼養衛生管理の強化ならびに感染家禽の早期発見による摘発・淘汰である。このため、迅速な鳥インフルエンザウイルスの検出と HA 亜型の同定は、HPAI の制御において極めて重要である。

2 鳥インフルエンザの監視及び検査体制

我が国が定める家畜伝染病予防法（家伝法）では、鳥インフルエンザを①高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）、②低病原性インフルエンザ（LPAI、H5 又は H7 亜型ウイルスが原因）、③鳥インフルエンザ（H5 又は H7 亜型以外のウイルスが原因）の三つに分類している（表 1）。このうち、① HPAI と② LPAI は家畜伝染病（法定伝染

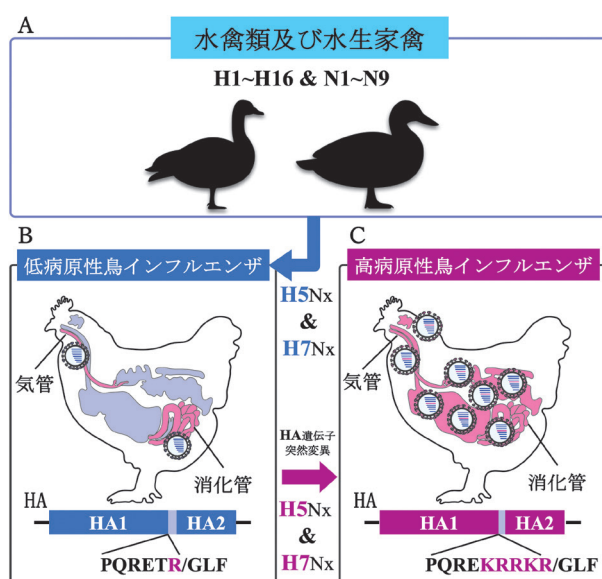


図 3 低病原性及び高病原性鳥インフルエンザ

水禽類は様々な HA（1～16）と NA（1～9）亜型の組み合わせのウイルスと共生関係にある（A）。ウイルス感染にはタンパク質分解酵素による HA の開裂（HA1 と HA2 への切断）が必須だが、水禽類に由来する H5 又は H7 亜型ウイルスの HA は気管や消化管上皮に存在するトリプシン様酵素で切断されるため、ウイルス増殖部位は限定され、病原性は低い（B）。一方、HA 遺伝子に突然変異が生じ、開裂部位に塩基性アミノ酸が蓄積した高病原性鳥インフルエンザウイルスの HA は、宿主細胞に広く存在するフリンで切断されるため、ウイルスは全身諸臓器で増幅可能となり、高い病原性を示す（C）。このため、家畜伝染病予防法では H5 及び H7 亜型ウイルスに起因する鳥インフルエンザを家畜伝染病に指定している。

表1 家伝法上の鳥インフルエンザの分類

		ウイルスのHA亜型	
		H5又はH7	左記以外
病原性	低	低病原性鳥インフルエンザ [¶]	鳥インフルエンザ [¶]
	高*	高病原性鳥インフルエンザ [¶]	

[¶]対象種：鶏、あひる、うずら、きじ、だちょう、ぼろぼろ鳥、七面鳥

*次に示すWOAHの高病原性鳥インフルエンザ診断基準のいずれかを満たした場合に高病原性と判定

1. 6週齢鶏の静脈接種試験で病原性指標が1.2以上又は4-8週齢鶏の静脈接種試験で75%以上の致死率を示す。

2. H5又はH7亜型ウイルスで、HAの開裂部位のアミノ酸配列が既知のHPAIウイルスと類似している。

病)に指定されており、これらの疾病が発生した場合は、法律に基づく殺処分や移動制限などの強制力を伴う防疫措置が執られる。一方、③鳥インフルエンザは届出伝染病に指定されており、都道府県への通報義務はあるものの、発生に際して強制力を伴う防疫措置は執られない。HPAI又はLPAIを規定するのは“鶏に対する病原性”であり、国際獣疫事務局(WOAH)が定めた診断基準(WOAH Terrestrial Manual 2021)に従って判定することとなる(表1*を参照)。

図4に我が国における鳥インフルエンザの監視検査体制を示す。5羽以上の家禽がまとまって死亡しているなどの「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」(以下「特定家畜防疫指針」という)に記載された指標に基づ

く届出を都道府県が家禽の所有者や獣医師等から受けた場合は、直ちに家畜防疫員を当該農場に派遣し、簡易検査キットによる抗原検査を実施する。抗原検査では、家禽の気管又は総排泄腔拭い液(スワブともいう)からA型インフルエンザウイルスが持つ保存性の高いタンパク質(家畜防疫員が使用するキットではNPタンパク質)を抗原抗体反応によって検出する。検査結果が陽性となった場合は、A型インフルエンザウイルス(つまり鳥インフルエンザウイルス)が農場内に侵入していることは明らかであるが、家畜伝染病に指定されているHPAI又はLPAIが発生しているのかまでは結論づけることができない。そこで、採取した拭い液を家畜保健衛生所に持ち帰り、HA遺伝子の亜型を調べる遺伝子検査を実施する(図4)。抗原検査や遺伝子検査の結果等の様々な情報は各都道府県から農林水産省(農水省)に送付される。農研機構動物衛生研究部門(動衛研)は、農水省から送付された遺伝子検査の結果を精査し、当該農場で検出された鳥インフルエンザウイルスがH5又はH7亜型ウイルスであるかを判定し、その結果を農水省に報告する。H5又はH7亜型ウイルスが検出された場合には、農水省及び都道府県は、特定家畜伝染病防疫指針に基づき患畜及び疑似患畜を決定し、殺処分を含む防疫措置を実施する。一方、動衛研は家畜保健衛生所が发育鶏卵を用いて分離したウイルスの提供を受け、病原性判定試験を実施し、分離されたH5又はH7亜型鳥インフルエン

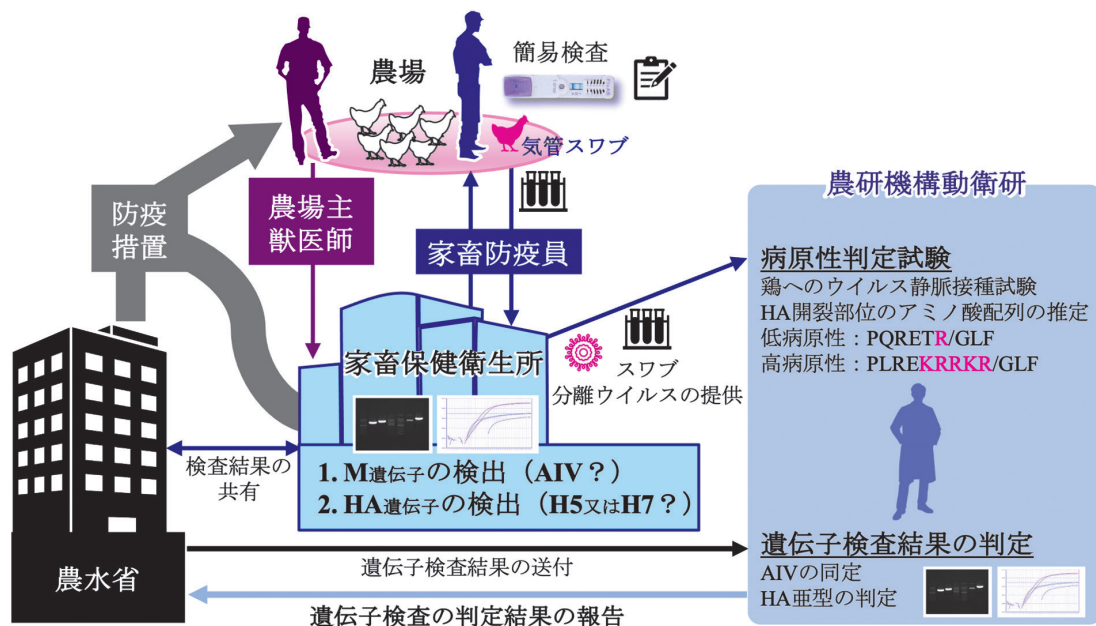


図4 我が国における鳥インフルエンザの監視検査体制

農場からの通報を受け、家畜保健衛生所の家畜防疫員が農場で簡易検査を実施する。簡易検査陽性鶏の気管スワブから核酸を抽出し、鳥インフルエンザウイルス(AIV)の検出とHA亜型の同定を目的とした遺伝子検査を家畜保健衛生所で実施する。検査結果等の情報は農林水産省(農水省)、都道府県及び農研機構動物衛生研究部門(動衛研)で共有され、動衛研は家畜保健衛生所が実施した遺伝子検査結果を精査し、HA亜型を判定して農水省に報告する。低病原性又は高病原性鳥インフルエンザと判定された場合は、殺処分等の防疫措置を実施する。

ザウイルスの病原性を決定する（図4）。例えば、2005年のH5N2ウイルスによる鶏の感染事例や2008年のH7N6ウイルスによるウズラの感染事例では分離ウイルスを鶏に静脈内接種し、WOAHの判定基準に従ってLPAIと判定している⁸⁾⁹⁾。このように都道府県、農水省及び動衛研の三者が協力して家禽での鳥インフルエンザの発生に対処している。

3 鳥インフルエンザウイルスを検出する遺伝子検査法

3.1 RT-PCRの概要

ある特定のDNA配列の断片を大量に増幅する分子生物学的な手法としてポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction, PCR）がある。反応の鋳型となるDNA、DNA合成の起点となるプライマー、DNA合成の材料となるヌクレオチド、DNAを合成する酵素（DNAポリメラーゼ）などを1本のチューブに入れ、95℃付近（2本鎖DNAを1本鎖に熱変性）→55℃付近（プライマーの1本鎖DNAへの結合：アニーリング）→70℃付近（DNAの伸長）という3段階の温度変化を周期的に繰り返すことにより、2本のプライマー（Forward: FwとReverse: Re）に挟まれたDNA断片を指数関数的に増やすことができる（図5下段）。アニーリングとDNA伸長

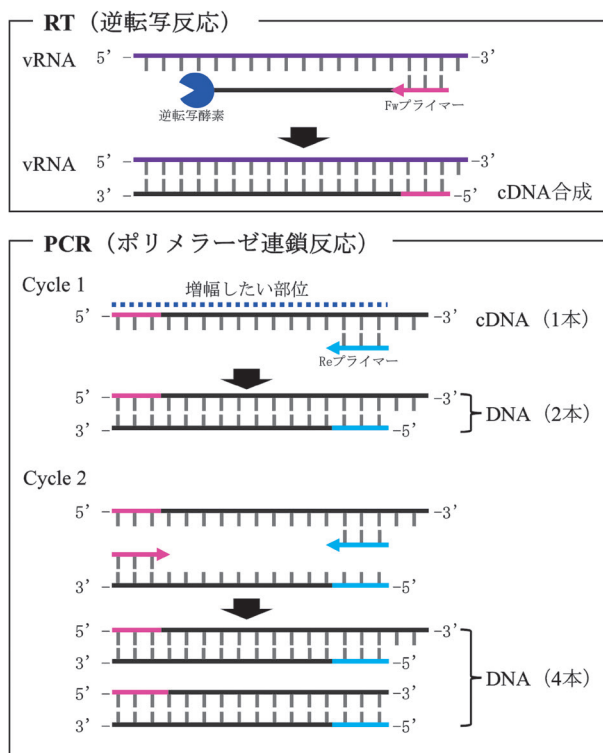


図5 RT-PCRの原理

RT-PCRは、特定のRNA配列を高感度に出する分子生物学的手法である。逆転写酵素を用いてRNAを相補的DNA（cDNA）に変換し、そのcDNAをPCRで指数関数的に増幅させる。

反応の過程を合わせて一つにした2ステップでPCRを実施することも可能である。ただし、PCRはDNAを大量に増やす手法であるため、RNAを直接増幅することはできない。前述したように、鳥インフルエンザウイルスのゲノムはRNAであるため、RNAをDNAに変換する逆転写（reverse transcription, RT）反応を使ってウイルスゲノムRNA配列に相補的なDNA配列（complementary DNA, cDNA）を得る必要がある（図5上段）。RNAからcDNAへの逆転写反応とそれに続くポリメラーゼ連鎖反応を含む一連の過程をRT-PCR（reverse transcription-polymerase chain reaction）という。

得られたPCR産物は、アガロースゲル電気泳動後にエチジウムブロマイドなどの2本鎖DNA間に挿入されて蛍光を発する物質を利用して可視化する方法（いわゆるコンベンショナルRT-PCR法）や蛍光プローブとその蛍光を検出可能なPCR装置を使ってPCR産物の増幅をリアルタイムに検出するリアルタイムRT-PCR法などが確立されている（図6）。

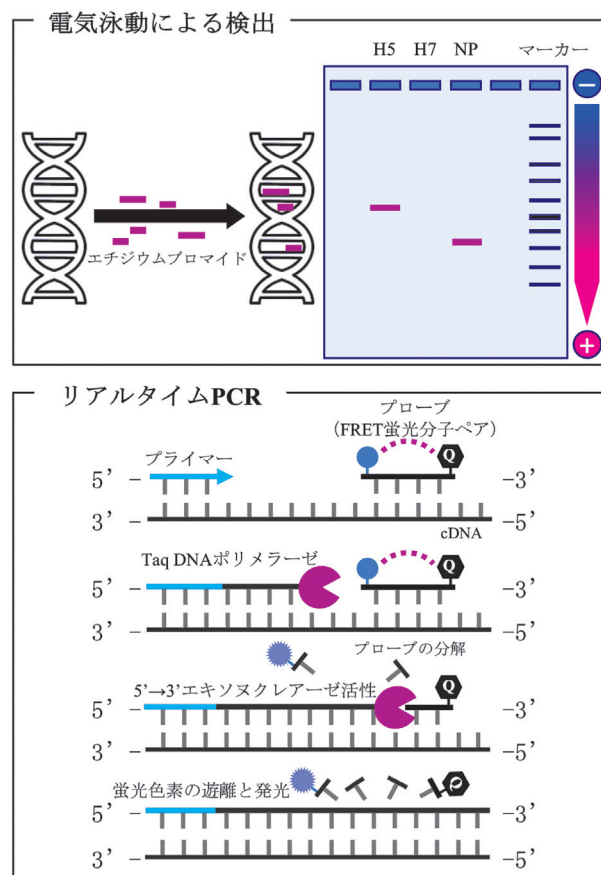


図6 PCR産物の検出方法

PCR産物は、電気泳動後にエチジウムブロマイド等のDNAと結合して蛍光を発する物質により可視化できる。または、蛍光プローブとその蛍光を検出するPCR装置を用いてリアルタイムでPCR産物の増幅を検出することもできる。リアルタイムPCRは電気泳動が不要なので、迅速な解析を実現できる。

3・2 鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査法

鳥インフルエンザに関する遺伝子検査の目的は、①鳥インフルエンザウイルスが検出されるか？ ②検出された鳥インフルエンザウイルスがH5又はH7遺伝子を持っているか？ の2点を明らかにすることである。検査方法としては、コンベンショナル RT-PCR 法とリアルタイム RT-PCR 法の両方が使用されている。ゲル電気泳動が不要で迅速な解析が可能なリアルタイム RT-PCR 法による検査は、近年の流行ウイルス系統を含む既知のH5亜型とH7亜型ウイルスのHA遺伝子を網羅的に検出可能であるが、過去に報告された一部のH5及びH7亜型ウイルスに対する検出感度が低い。このため、リアルタイム RT-PCR 法で用いるプライマーとは異なるHA遺伝子の塩基配列を対象にプライマーを設計したコンベンショナル RT-PCR 法による検査も並行して行い、検査の網羅性を補完している。繰り返しになるが、家伝法において家禽の移動制限や殺処分といった強制措置を含む防疫作業の対象となる疾病は、H5又はH7亜型鳥インフルエンザウイルスを原因とするHPAIとLPAIであるため（表1）、遺伝子検査におけるHA亜型の決定は重要な意味を持つ。加えて、HPAIウイルスは鶏に対して高い致死性と強い伝播力^{でんぱ}を示すため、農場における

HPAIの発生をいち早く発見し、近隣農場への感染拡大と病気の蔓延を防ぐ措置を素早く執ることが必要不可欠である。このため、国や都道府県の病性鑑定施設等（動物検疫所や家畜保健衛生所）が実施する本病の判定に資する遺伝子検査は迅速性と正確性が強く求められる。

3・3 従来のリアルタイム RT-PCR 法について

従来のリアルタイム RT-PCR 法（従来法）は、「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく遺伝子検査の方法について」（令和元年9月27日付け元消安第2275号）に則った検査法として都道府県の家畜保健衛生所において利用されている。鳥インフルエンザウイルスの検出には、HA亜型の異なるウイルス間でも塩基配列が保存されているM遺伝子の塩基配列の一部を標的とするプライマー/プローブが使用されており、HA亜型を決定するためにはH5及びH7遺伝子の塩基配列の一部を標的とするプライマー/プローブが使われている。H5ならびにH7亜型ウイルスには北米大陸で進化してきたウイルス系統とユーラシア大陸で進化してきたウイルス系統が存在する。そのため、異なる標的配列に対する複数のプライマー/プローブを混合して使う事により2系統の

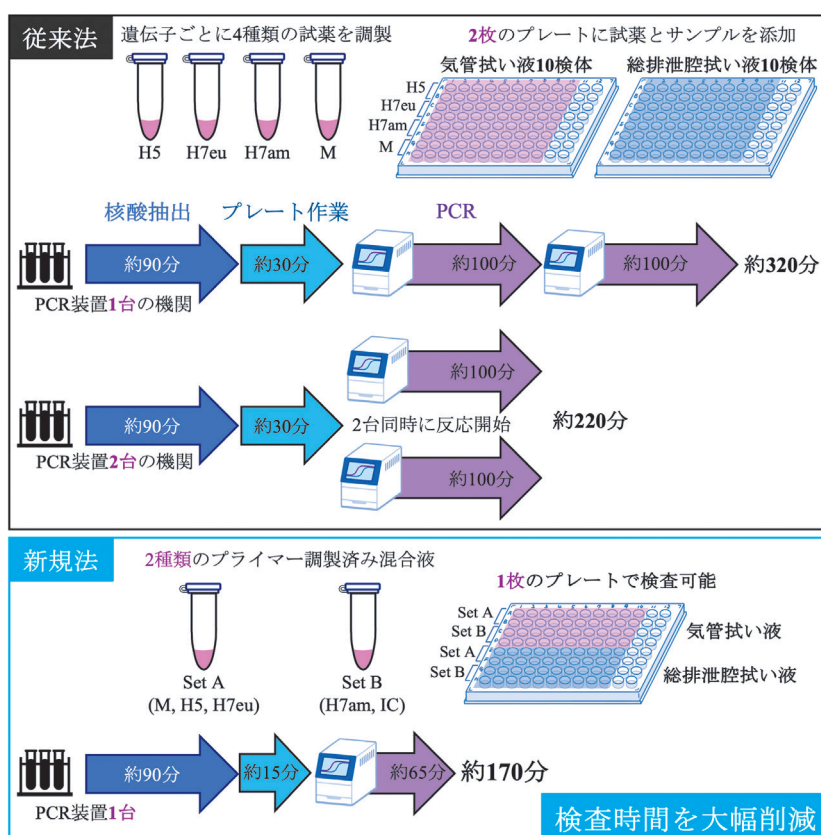


図7 従来法と新規法の違い

遺伝子検査は各検体をデuplicate（2ウェルずつ）で実施する。従来法（上段）では1回の検査（20検体分）で標的遺伝子（H5, H7eu, H7am 及び M）ごとに試薬を4種類準備するため、検査には2枚の96ウェルプレートが必要である。一方、新規法（下段）では一つの試薬で複数の標的遺伝子を検出できるため、事前調製済みの2種類の試薬と96ウェルプレート1枚を用いて20検体の検査が完了する。

H5 亜型ウイルスの検出に対応している。一方、2 系統の H7 亜型ウイルスの検出に関しては、主にユーラシア系統のウイルスを検出可能なプライマー/プローブ (H7eu) とアメリカ系統を検出可能なプライマー/プローブ (H7am) の 2 種類のプライマー/プローブを混合せずに使用している。このため、従来法は M、H5、H7eu 及び H7am の四つのプライマー/プローブを使い、それぞれを単独で検出する検査法である。図 7 に示すように、従来法では検査対象とする遺伝子ごとに 4 種類の異なるプライマー/プローブを含む試薬を検査者が調製する。鶏以外の家禽（例えばアヒルなど）を対象とした検査では、死亡家禽 8 羽と生存家禽 2 羽の合計 10 羽の気管及び総排泄腔拭い液（10 羽×2 種類の拭い液＝20 検体）を採取し、RNA を抽出する。結果の信頼性を高めるために 1 検体につきデュプリケート（2 ウェルずつ）で RT-PCR を実施するため、気管拭い液と総排泄腔拭い液を 10 検体ずつ検査するには 96 ウェルプレートが 2 枚必要となる（図 7、従来法）。つまり、検査には RT-PCR を 2 回実施する必要がある、リアルタイム PCR 装置を 1 台しか保有しない機関では検査終了までに 320 分程度かかる。一方、リアルタイム PCR 装置を 2 台保有する機関では 2 枚のプレートを一度に RT-PCR に供することができるが、それでも検査終了までには約 220 分を要する（図 7、従来法）。

令和 6 年 10 月 31 日に特定家畜伝染病防疫指針の一部が改正され、鶏の検査に関しては気管拭い液のみを対象とする方針が新たに示された。この改正により、従来法を用いても鶏の遺伝子検査は 1 枚の 96 ウェルプレート上で可能になった。それでも、正確さと迅速さを常に要求される中で多数の検体を扱う検査者の肉体的・精神的負担は大きく、検査結果の判明まで長い時間を要することが課題となっていた。

3.4 新たに確立したリアルタイム RT-PCR 法について

上記の課題を克服するため、筆者らはタカラバイオ㈱と共同で、これまでよりも簡便かつ省力的な操作で鳥インフルエンザウイルスが持つ 2 種類の遺伝子（HA と M）を同時に検査し、鳥インフルエンザウイルスの検出と病原性にかかわる HA 亜型（H5 又は H7）の判定が可能な新たなリアルタイム RT-PCR 法（新規法）の確立に取り組んだ。省力化を達成するために、従来法では個別に検出していた 4 種類のプライマー/プローブを組み合わせで遺伝子検出系のマルチプレックス化を図った（図 7、新規法）。鳥インフルエンザウイルスの指標となる M 遺伝子を検出するプライマー/プローブ（M）、H5 遺伝子を検出するプライマー/プローブ（H5）及びユーラシア系統の H7 遺伝子を検出するプライマー/プローブ（H7eu）の 3 種類を組み合わせで混合した Set A [M、H5、H7eu] とアメリカ系統の H7 遺伝子を検出するプ

ライマー/プローブ（H7am）とインターナルコントロールを検出するプライマー/プローブ（IC）を組み合わせで混合した Set B [H7am、IC] の 2 種類の試薬を開発した。新規法では、PCR 阻害を受けやすい低濃度の鋳型 DNA（インターナルコントロール：IC）を反応系に添加し、そのシグナル増幅の有無を確認することにより、RNA 抽出過程において拭い液材料から持ち込まれた PCR 阻害因子を原因とする偽陰性の可能性を排除できるようになった。また、拭い液検体から抽出した RNA と 2 種類の事前調製済み試薬（Set A 及び Set B）を用いて M、H5、H7eu、H7am の四つの遺伝子を検出できるため、1 枚の 96 ウェルプレート上で 20 検体すべてについて鳥インフルエンザウイルスの検出と H5 又は H7 亜型の判定が可能となった（図 7、新規法）。鶏を対象とした検査であれば、96 ウェルプレートの半分を使用するだけで検査が終了する。

新規法では、マルチプレックス化された事前調製済みプライマー/プローブ試薬を使うため、試薬調製などの準備作業が半減したことに加え、RT 反応や PCR における DNA 伸長反応に要する時間も短縮できたことから、リアルタイム PCR 装置を 1 台のみ所有する機関であっても約 170 分ですべての検査過程が終了し、従来法に比べて検査時間を約半分に短縮することに成功した（図 7）。Gs/Gd 系統の H5 亜型 HPAI ウイルスは、1996 年の出現以来約 30 年間に渡り世界中で流行を続けているため、HA 遺伝子に変異が蓄積し、多様性が顕著に増加している¹⁰⁾。他の HA 亜型との交差反応を回避しつつ、検出可能な H5 亜型 HPAI ウイルスの網羅性を高めるために Set A には H5 遺伝子を標的とする複数組のプライマー/プローブセットを混合している。これにより、従来法に比べて H5 亜型 HPAI ウイルスに対する網羅性が向上している。また、マルチプレックス化と事前調製済み試薬の導入により、96 ウェルプレートへの試薬及び検体の分注回数が半減した。この作業効率の向上は、ウェルへの試薬・検体の入れ忘れや、同一ウェルへの異なる検体の誤添加といったヒューマンエラーの発生率を低減し、結果として誤操作やコンタミネーションのリスク軽減にも寄与している。

4 これからの課題

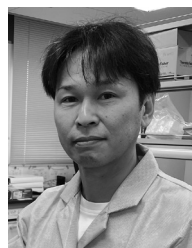
新たに確立した遺伝子検査法は、特定家畜伝染病防疫指針を踏まえて定められる「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく遺伝子検査の方法について」（令和 6 年 9 月 30 日付け 6 消安第 3679 号）に則った遺伝子検査法の一つとして国や都道府県の病性鑑定施設等において利用が開始されている。検査現場における使用実績においても、従来法と比較して検査終了までの所要時間が短縮されており、検査担当者の作業負担軽減に寄与して

いると考えられる。しかしながら、新規法においても他の HA 亜型遺伝子との交差反応を回避し、遺伝子データベースに登録されているすべての H5 亜型ウイルスの HA 遺伝子を検出可能なプライマー/プローブは設計できておらず、検査の信頼性を担保するには、リアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法の併用が欠かせない。99 % 以上の登録配列を少ない数のプライマー/プローブで網羅することは極めて難しいと考えられるが、検査者の負担軽減に向けて遺伝子検査法をリアルタイム RT-PCR 法に一本化するためには、この課題を克服する必要がある。また、検査の利便性を考慮した場合は、ユーラシア系統とアメリカ系統の H7 亜型ウイルスを網羅的に検出可能なプライマー/プローブの組み合わせを設計し、[H5, M, IC] と [H7, M, IC] のような HA 亜型ごとの試薬セットを開発する必要があるかもしれない。一方で、鳥インフルエンザウイルスの遺伝子検査全体の工程を俯瞰すると、気管拭い液及び総排泄腔拭い液からのウイルス核酸抽出に最も長い作業時間を割いている（図 7、新規法）。鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査の最前線である各都道府県の家畜保健衛生所の中には、シリカメンブレン法（いわゆるカラム精製）や磁性ビーズ法を用いた自動核酸抽出装置を導入している施設もあるが、決して安価な装置ではなく、定期的な保守管理費用が発生する機種もある。今後は核酸抽出過程に焦点を当て、更なる省力化と迅速化を可能にする簡易核酸抽出法を開発し、検査者の負担軽減に貢献したい。

謝辞 本遺伝子検査法の開発は、農林水産省の「安全な農畜産物安定供給のための包括的なレギュラトリーサイエンス研究推進委託事業（新たな感染症の出現に対してレジリエントな畜産業を実現するための家畜感染症対策技術の開発）」(JPJ008617.23812859) により実施した。

文 献

- 1) M. J. Pantin-Jackwood, D. E. Swayne : *Rev Sci Tech*, **28**, 113 (2009).
- 2) R. Chmielewski, D. E. Swayne : *Annu Rev Food Sci Technol*, **2**, 37 (2011).
- 3) J. Steel, A. C. Lowen : *Curr Top Microbiol Immunol*, **385**, 377 (2014).
- 4) S. M. Abdelwhab el, J. Veits, T. C. Mettenleiter : *Virulence*, **4**, 441 (2013).
- 5) W. Garten, F. X. Bosch, D. Linder, R. Rott, H. D. Klenk : *Virology*, **115**, 361 (1981).
- 6) X. F. Wan : *Zoonoses Public Health*, **59** (supplement 2), 32 (2012).
- 7) 日尾野隆大, 磯田典和, 迫田義博 : ウイルス, **74**, 107 (2024).
- 8) M. Okamatsu, T. Saito, Y. Yamamoto, M. Mase, S. Tsuduku, K. Nakamura, K. Tsukamoto, S. Yamaguchi : *Vet Microbiol*, **124**, 35 (2007).
- 9) K. Sugiura, K. Fushimi, T. Takehisa, M. Miwa, T. Saito, Y. Uchida, T. Onodera : *Vet. Ital*, **45**, 481 (2009).
- 10) B. Bellido-Martin, W. F. Rijnink, M. Iervolino, T. Kuiken, M. Richard, R. A. M. Fouchier : *Nat. Rev. Microbiol*, (2025). DOI: 10.1038/s41579-025-01189-4.



宮澤 光太郎 (MIYAZAWA Kohtaroh)
 (国研) 農業食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門人獣共通感染症研究領域新興ウイルスグループ (〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5). 東北大学大学院農学研究科. 博士 (農学). 《現在の研究テーマ》ブリオン病とウイルス性人獣共通感染症の診断法開発と病原性解析. 《趣味》(最近は行っていないが) ハゼ釣り.
 E-mail : miyazawa.kohtaroh090@naro.go.jp

人工遺伝子・長鎖 DNA の合成と分析が支える遺伝子治療の発展

山 田 尚 之

1 はじめに

生物資源やバイオテクノロジーを活用した持続可能な循環型の産業・経済社会を意味するバイオエコノミーは、医薬品をはじめとして化学素材、燃料、農薬、食品等の様々な産業分野を対象とし、その経済効果は2030～2040年で年間約2～4兆ドルになると推計されている。生物による効率的な物質生産を実現するバイオものづくりは、バイオエコノミーの基盤となる持続可能な生産法として注目されている。日本政府の「骨太方針2023」にバイオものづくりに対する投資拡充が明文化され、対応する国家プロジェクトが始動した。また、経団連がバイオトランスフォーメーション戦略とその実現のための提言、重要施策を発表するなど、官民ともにその機運と期待が高まっている。

合成生物学は、人工遺伝子合成とゲノム編集技術等の最先端の科学技術を活用して遺伝情報を操作することにより、生物を特定の目的に適応させる学術分野である。ゲノム中の任意の塩基配列を編集するゲノム編集に対し、設計した塩基配列の遺伝子を新規に合成する人工遺伝子合成は、遺伝子工学や分子生物学の分野で広く利用されている。代表的なものとしてアミノ酸、核酸といったバイオ素材・調味料や抗体医薬品、ワクチン、再生・細胞医療、遺伝子治療といったバイオ医薬がある。その他バイオ燃料、バイオ農薬、遺伝子組換え作物など、ケミカルから食物まで幅広く応用されている。人工知能(AI)との組み合わせにより著しく進化している分野である。ゲノム編集と比べて人工遺伝子合成・長鎖DNA合成は自由自在に大規模な遺伝子ネットワークを構築することができるが、長鎖DNAの合成は技術的に困難であり、高コストが課題である。

2 人工遺伝子合成技術

2.1 人工遺伝子の合成プロセス

長鎖の人工遺伝子合成は複数の工程から構成される(図1)¹⁾。初めに目的の遺伝子配列の全領域をカバーするように数から数十塩基程度(～10² mer)の一本鎖DNAであるオリゴDNAをデザインする。設計した複数のオリゴDNAを化学合成法または酵素合成法で合成し、これらを材料として二本鎖DNAを構築する。この

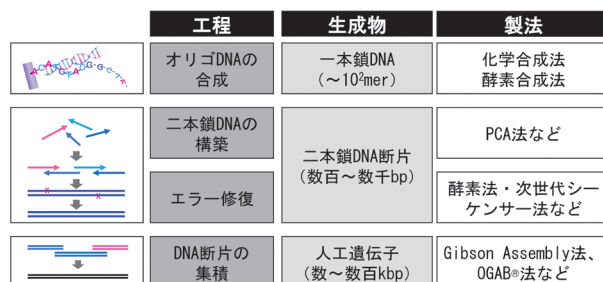


図1 人工遺伝子・長鎖DNAの合成工程¹⁾

過程で配列にエラーが生じた場合は修復を行う。組み立てた複数の二本鎖DNA断片を集積することで人工遺伝子・長鎖DNAを合成する。

2.2 オリゴDNA合成法(～10² mer)

オリゴDNAの化学合成は、1980年代に開発されたホスホロアミダイト法が主流であり、優れた自動合成機が市販されている。本法は支持担体を用いた固相合成法で、脱保護→カップリング→キャッピング→酸化の反応工程からなるサイクルを繰り返すことにより、一塩基ずつ核酸を伸長し、最後に支持担体からオリゴDNAを切り出す。一塩基伸長毎の反応収率は99.5%以上と高く、約100～200 merまでのオリゴDNAが合成可能である。一方、高価な試薬や有機溶剤の使用が課題である。Twist Bioscience社は1996年に登場したインクジェット技術を用いたシリコンアレイ法をベースとして省試薬、省溶媒、ハイスループット化を進め、現在商用製造に利用している。2020年以降、開発が加速している酵素合成法は、化学試薬の代わりにDNAの合成を担う酵素(DNAポリメラーゼ)を利用する。有機溶媒の消費量が少なく、正確性が高い点が有利であるが、コスト高が課題である。

2.3 二本鎖DNAの構築法(10²～10³ bp)

遺伝子として機能するサイズの二本鎖DNA(10²～10³ bp)の構築法として、複数の一本鎖オリゴDNAを連結するPolymerase Cycling Assembly(PCA)法が普及している。この方法はオーバーラップ配列を持つオリゴDNAをアニーリングし、一本鎖のギャップ部分をDNAポリメラーゼで合成し二本鎖DNAとする。最後に目的

配列の両端をプライミングサイトとした PCR で増幅し目的の DNA 断片を調製する。

2.4 人工遺伝子・長鎖 DNA の合成 (数千 bp~)

2.4.1 人工遺伝子・長鎖 DNA 合成のための集積法

複数の遺伝子から構成される遺伝子クラスターやゲノムなど千 bp を超える DNA は、複数の DNA 断片を合成し集積して作成する。Gibson Assembly 法、Golden Gate 法、酵母や枯草菌などの細胞・微生物を用いる方法など様々な集積法がある。それぞれ集積可能な DNA 断片数、成功率、配列エラー率、手技の難度など優劣がある。2009 年に発明された Gibson Assembly 法はオーバーラップ配列を用いる方法で、隣接する DNA 断片の末端に共通配列を用意し、*in vitro* で 3 種類の酵素を作用させてオーバーラップ配列を作成、生成した相同領域でアニーリング後ギャップを埋め、最後にニック (切れ目) を修復する方法である。2010 年に登場した Golden Gate 法は、*in vitro* で Type II 制限酵素を用いて 4 塩基の突出部位を形成し、相補的な配列を持つ隣の DNA 断片とアニーリング後、ligase により DNA 断片同士を連結する方法である。いずれの手法も最終工程で細胞を用いたクローニングを行い、DNA 配列の確認・選別を経て、設計通りの人工遺伝子・長鎖 DNA を環状のプラスミド DNA として取得する。プラスミド DNA とは、染色体とは別に細胞内に存在し、独立して複製する DNA 分子である。通常、環状の二本鎖として存在し、遺伝子工学のツールとして利用される。

2.4.2 細胞・微生物を用いた集積法

最も一般的な方法は酵母集積法である。酵母の持つ DNA 二本鎖切断の修復時の相同組換え機構を利用し、細胞内に取り込ませた複数の DNA 断片の相同配列領域で連結する。細胞内では直鎖状 DNA は複製されず、すべての DNA 断片が連結して生成した環状プラスミドのみが複製されることで目的の長鎖 DNA を得る。100 kbp を超える集積が可能であるが、増殖時間が長いこと、クローニングのヒット率が低いことや GC 含量の高い DNA 断片の集積が困難などの課題がある。

OGAB[®] 法 (Ordered Gene Assembly in *Bacillus subtilis* 法)²⁾ は、枯草菌の特性を利用し一度に 50 以上の DNA 断片を決められた順番通り集積する方法で、数 kb~100kb 超の長鎖 DNA など合成難度の高い DNA を構築可能な技術である (図 2)。目的の配列情報から集積に必要な DNA 断片を設計し、化学合成と PCA により数百 bp の二本鎖 DNA 断片を合成する。続いて複数の DNA 断片とプラスミドベクターを連結することにより、タンデムリピートの直鎖状 DNA を調製する。枯草菌はこのタンデムリピート直鎖状 DNA を自発的に細胞内の取り込み、環状化する特性を有しており、枯草菌からプ

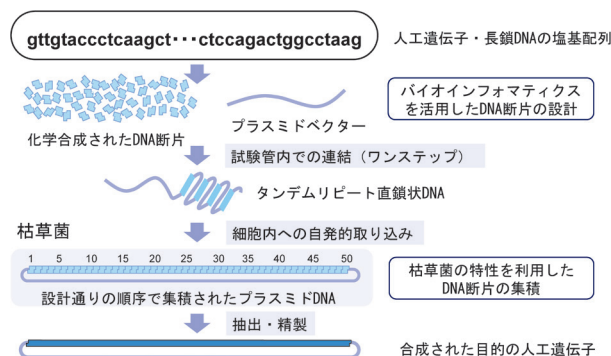


図2 OGAB[®] 法による人工遺伝子合成²⁾

ラスミド DNA を抽出・精製することで目的の人工遺伝子を取得する。

直鎖状 DNA を細胞内で環状化できる OGAB[®] 法は、大腸菌や酵母を用いる従来法では困難な長鎖 DNA の合成を可能とした。これまでに 135 kbp の人工遺伝子、リピート配列や GC 含量が多く合成困難な配列を含む 500 種類を超える人工遺伝子の合成に成功している。OGAB[®] 法を基に人工遺伝子合成受託サービスのスタートアップとしてシンプロジェン社が設立された。その後本技術を活用し、治療用ウイルスベクターや mRNA 医薬の研究・製造関連事業に展開している。

2.4.3 無細胞系長鎖 DNA 合成・増幅技術

合成対象の DNA が宿主細胞に対して毒性を持つ場合は細胞を用いた合成法は利用できない。これを解決する方法として、立教大学の末次教授らは大腸菌のゲノム複製システムを試験管内で再現する Replication Cycle Reaction 法を開発した。酵素を使った DNA 断片の連結技術と組み合わせることで長鎖環状 DNA の構築と増幅が可能である³⁾。本成果を事業化したオリシロジェノミクス社は、2023 年に mRNA ワクチン企業である米国モデルナ社に買収された。

3 人工遺伝子・長鎖 DNA の分析

3.1 定性・定量分析の重要性について

通常、分子生物学で用いられる目的遺伝子は生物や環境より採取したゲノム DNA やその断片からクローニングして調製される。これに対し人工遺伝子は、人為的に 1 から合成されたものであり、機能が発現されるか否が不明である。何らかの機能を持つ天然由来の遺伝子と比べて、設計通りの配列であることをより詳細に確認しなければならない。さらに遺伝子関連のバイオ医薬品の場合、安全性と有効性の観点から、定性分析と定量分析の両方の視点で詳細かつ多様な分析が必要となる。

3.2 定量 PCR とデジタル PCR による定量分析

定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) は、PCR 反応

による DNA の増幅量をリアルタイムに測定し、増幅率に基づいて鋳型となる DNA を定量する方法である⁴⁾。mRNA は逆転写酵素反応を組み合わせた定量的逆転写 PCR (RT-qPCR) で行われる。またデジタル PCR (dPCR) は、マイクロチップやナノドロプレットといった微細空間内に核酸と PCR 試薬を分配して PCR 反応を行う技術で、分画ごとに対象の核酸が存在していたかないかをデジタル情報として出力されるため、絶対定量が可能な定量法である⁴⁾。

3.3 アガロースゲル電気泳動

合成した人工遺伝子や長鎖 DNA の鎖長が設計配列と合致すること、および純度を簡便に調べる方法としてアガロースゲル電気泳動 (agarose gel electrophoresis, AGE) が用いられる。また、制限酵素処理で生じる DNA 断片の AGE による制限酵素マップから簡易な配列解析を行う。AGE は同じ配列のプラスミド DNA でもトポロジーが異なることにより移動度に差異が生じる。超らせん構造をとる環状 DNA (covalently closed circular, ccc または super coil (sc) DNA) が最も安定でコンパクトである。二本鎖のうち片方の DNA 鎖にニックが入ると開環状 (open circular, OC) DNA となる。そのほかに二本鎖の両端が切断された直鎖状 (linear) DNA があり、これらは AGE で分離できる。通常の AGE は 20 kb 程度まで分析が可能であるが、より長鎖の DNA の分析には 1990 年代～2010 年代に主流であったパルスフィールドゲル電気泳動法を用いる。一定方向の電場により DNA 断片を分離する AGE に対して、パルスフィールドゲル電気泳動は、電場の向きを指定した時間周期で変動させることにより、巨大 DNA を分離する方法である。

3.4 キャピラリーゲル電気泳動

キャピラリーゲル電気泳動 (capillary gel electrophoresis, CGE) は、対象の DNA の分子サイズに適した高分子ハイドロゲルと蛍光色素を充填したキャピラリーに高電場

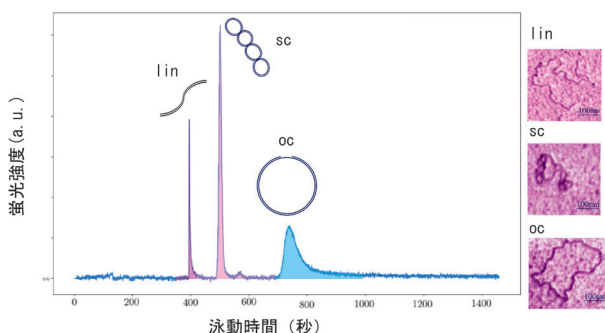


図3 プラスミド (pUC19) の構造と CGE デンシトグラム
左: SC (薄赤) super coiled, OC (青) open circular, Lin (赤) linear DNA: 右: 原子間力顕微鏡, (上) linear DNA, (中) super coiled, (下) open circular, 文献⁵⁾より引用 (一部改)。

をかけ、分子サイズと荷電状態による泳動度の違いで分離する方法である。特に sc, oc, liner DNA といったトポロジーの分離能、定量性および感度が AGE より優れている (図3)⁵⁾。CGE で用いられる蛍光色素は核酸と結合することで蛍光強度が増大する性質をもち、一本鎖 DNA と二本鎖 DNA、環状 DNA と直鎖 DNA では結合性が異なるため、測定対象と目的に適した蛍光色素を選択することが重要である。

3.5 シーケンス解析 (塩基配列解析)

合成途中の DNA 断片や最終品の長鎖 DNA が設計通りの塩基配列であることを確認するために、サンガーシーケンス、次世代シーケンス (Next-Generation Sequencing, NGS)、ナノポアシーケンスの三つの手法が用いられる。1970 年代に開発されたサンガーシーケンスは一塩基ずつ順番に配列を読み解く手法で、700～1000 塩基程の配列解析や繰返し配列、mRNA の polyA 鎖の解析に適している。これに対して、2000 年代に登場し現在も進化している NGS は、数百万から数十億、数兆の大量の塩基配列を並列に決定することができる。サンガーシーケンスと比べて低コスト・ハイスループットで、大規模なゲノム解析や長鎖 DNA の全長解析に適している。また新しいシーケンス技術として、膜タンパク質で構成された細孔 (ナノポア) を DNA が通過する際の電気的変化で塩基の種類を判別し、配列をリアルタイムに読み取るナノポアシーケンス法が開発され、2015 年に商用機が登場した。若干精度が劣るものの、超長鎖のリード (4 Mb 以上) をリアルタイムで解析できる強みがある。各手法は目的と用途に応じて使い分けられている。詳細な解説は教科書やレビューを参照されたい⁶⁾。

4 mRNA 医薬品と遺伝子治療等製品の分析

4.1 分析の必要性について

遺伝子工学を用いて開発されるバイオ医薬品において、人工遺伝子・プラスミド DNA は極めて重要な物質である。特に疾患原因遺伝子の修復・置換・補充などを施す遺伝子治療等製品 (例: アデノ随伴ウイルスベクター) と mRNA ワクチン・医薬品は、主要原料がプラスミド DNA であり、薬効の主役は人工遺伝子である。したがって、人工遺伝子・プラスミド DNA の品質は、mRNA 医薬品とウイルスベクターの生産性、品質、有効性に大きな影響を及ぼすため、詳細な分析が必要となる。

4.2 mRNA ワクチン・医薬品

4.2.1 mRNA ワクチン・医薬品の構造と製法

mRNA ワクチンおよび医薬品の主要原料である鋳型 DNA は、主に大腸菌を用いた発酵プロセス等により製造した環状のプラスミド DNA を制限酵素で切断し直鎖

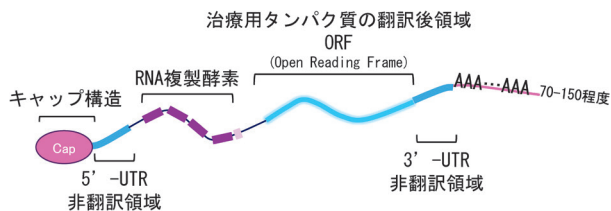


図4 自己増幅型 mRNA ワクチン・医薬の構造

化することで調製される。続いて、T7 ポリメラーゼを用いた *in vitro* 転写合成、キャップ付加反応により、目的の mRNA を合成し、精製工程を経て原薬となる。一般的な mRNA の全長は治療用タンパク質の遺伝子や polyA 鎖の長さに依存するがおおむね 5 kb 以下である。

少量投与で効果と持続性のある次世代の自己増殖型 mRNA は、RNA 複製酵素遺伝子が搭載されていることから全長 10 kb を超える (図 4)。

4・2・2 鋳型 DNA の分析

重要原料である鋳型 DNA の品質試験と特性解析に関する情報は mRNA 原薬に比べて少ないため、後述の遺伝子治療用ウイルスベクターの原料プラスミド DNA に関する情報が参考となる (4・3・2)。特徴的な構造である PolyA 鎖については、サンガーシーケンスや CGE に加え、LC-MS/MS による polyA および polyT 鎖長の解析など研究開発が活発な分野である。一方、トポロジーの不均一性に関する報告⁷⁾のような、鋳型 DNA の品質が mRNA 原薬の品質に及ぼす影響に関する知見はまだ少ない。

4・2・3 mRNA の分析

mRNA 原薬の品質試験と特性解析については、WHO のガイドライン、米国薬局方の分析手順書⁹⁾と国内の審議結果報告書の内容が、医療機器レギュラトリーサイエンスに詳しく纏められている⁹⁾。核酸に関する品質特性項目には、①同一性：塩基配列確認 (サンガーシーケンス、NGS、RT-PCR)、②定量：mRNA 含量 (UV-VIS、RT-qPCR、RT-dPCR)、③完全性：5' キャップ付加率・3' ポリ A 鎖付加率・鎖長 (AGE、クロマトグラフィー、PCR)、④純度：不純物である二本鎖 RNA (イムノブロット、HPLC)、残存鋳型 DNA (qPCR) と、複数の分析法が用いられている。

2022 年に報告された新しい塩基配列解析法として LC-MS/MS を用いたオリゴヌクレオチドマッピング法がある。これはタンパク質のペプチドマッピングと類似した手法で、mRNA を消化酵素で部分消化し、生成した RNA 断片を LC-MS/MS で解析し、同定された配列をマッピングする手法である¹⁰⁾。LC は核酸分析用にイオンペア-逆相 HPLC (IP-RP-HPLC) を、質量分析は ESI のネガティブモードで行う。測定データを専用の解析ソ

フトを用いて観測されたオリゴ DNA 断片の帰属を行い、酵素添加量の異なる複数条件の測定解析結果を統合することで 90 % 以上のカバー率を達成することができる。LC-MS/MS はオリゴヌクレオチドマッピング以外に、polyA 鎖やキャップ構造の分析など幅広く活用される。

4・3 遺伝子治療用ウイルスベクター

4・3・1 アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの製法

遺伝子治療用ウイルスベクターの中では安全性と実績からアデノ随伴ウイルス (Adeno associated virus, AAV) ベクターが最も多く用いられている。一般的に遺伝子治療用 AAV ベクターは、原料となる 3 種類の環状プラスミド DNA を HEK293 細胞等の動物細胞株に一過性に導入し、培養することにより生産される。製造法の詳細は他の解説を参照されたい¹¹⁾。

4・3・2 原料となるプラスミド DNA の分析

プラスミド DNA は、原薬となる AAV ベクターや mRNA 医薬品の品質に大きな影響を持つ重要な原料であるため GMP 準拠したあるいは GMP like の製造が行われる。世界的なバイオ医薬品業界団体である BioPhorum の提言レポート記載の内容からプラスミド DNA の品質評価について核酸 (DNA, RNA) 分析の項目を抜粋し表 1 に記した¹²⁾。AAV ベクターと mRNA 医薬品は新しいタイプの医薬品であることから、測定法は継続的に改善されて行く。

表 1 原料プラスミド DNA の品質試験項目例 (核酸のみ)¹²⁾

項目	測定法
定量 (含量)	紫外分光 (UV) A260
定量/DNA 均一性	キャピラリーゲル電気泳動 (CGE), アガロース電気泳動 (AGE), HPLC
同一性	AGE, シーケンス, 制限酵素マッピング (AGE)
純度: DNA	UV A260/280
純度: % Supercoiled	CGE, HPLC
純度: 残存 DNA	定量 PCR (qPCR)
純度: 残存 RNA	HPLC, 蛍光分析

4・3・3 AAV ベクターの分析

AAV ベクターは、3 種類の構造タンパク質から構成される正 20 面体のウイルス粒子 (カプシド) の内部に治療目的遺伝子が封入されたものである。したがって、タンパク質と核酸 (遺伝子) と粒子という三つの側面で品質評価を行う必要がある。AAV ベクターの品質特性項目については、「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指針」¹³⁾を参照いただきたい。AAV ベクターの品質評価の内、核酸の分析に関する項目は複数

存在する。力価として qPCR, dPCR, UV/VIS でゲノムタイターを測定し目的治療遺伝子を定量する。NGS や dPCR により目的遺伝子配列の完全性を確認する。純度については、qPCR, dPCR, NGS を用いて残存宿主由来 DNA と残存原料プラスミドの定量分析が行われる。核酸以外には AGE, CGE によるカプシド純度分析が行われる。また、遺伝子が封入されていないウイルスベクター（空カプシド）の分析にイオン交換クロマトグラフィーや Mass Photometry, 分析超遠心法（AUC）, 電子顕微鏡が用いられる。

カプシドタンパク質の分析は抗体医薬品の分析手法が応用されている。質量分析を例にすると、インタクト LC-MS, ペプチドマッピングなどが該当する¹⁴⁾。

5 おわりに

次世代シーケンサーの登場により、生命の設計図である遺伝子を読むスピードとコストは劇的に低下した。一方、人工遺伝子合成技術はコスト面とスループットの課題に加え、合成困難な遺伝子が数多く存在している。これを書物に例えると、分厚く難解な本（ヒトゲノム）を読めるようになったが、文字、単語、簡単な文は記述できるものの、難しい文章の記述や解説・本の執筆には遠く及ばない状況である。人工遺伝子合成の発展は、生命科学やバイオエコノミーの革新的な発展の礎と言え、その実現には高い精度の新たな分析技術の存在が不可欠である。一方、生命科学における AI の発展は著しく、ゲノムモデリングと設計を可能とする基盤モデル AI（Evo2）に関する論文がついに最近報告された¹⁵⁾。このようなゲノム配列を生成する AI の登場により、人間が意図せずに人類や地球環境に危機を及ぼすリスクが現実味を帯びてきた。これを未然に防ぐバイオセキュリティの取組はバイオエコノミーの発展に不可欠であり、今後その重要性は益々高まるであろう。

謝辞 mRNA のオリゴマッピングの測定とデータ解析についてサーモフィッシュサイエンティフィック株式会社の肥後大輔氏、永島良樹氏と株式会社シンプロジェンの西上明則氏、細田直氏、齋藤俊介氏に、人工遺伝子・DNA 合成技術に関してご助言いただいた柘植謙爾氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 野地博行, 田端和仁, 影山茂樹, 奥野大地, 高久春雄: “ImPACT 野地プログラム調査報告書 長鎖 DNA 合成技

術の進展と課題”, (2019)。

- 2) K. Tsuge, Y. Sato, Y. Kobayashi, M. Gondo, M. Hasebe, T. Togashi, M. Tomita, M. Itaya : *Sci. Rep.*, **5**, 10655 (2015).
- 3) M. Su’etsugu, H. Takada, T. Katayama, H. Tsujimoto : *Nucleic Acids Research*, **45**, 11525 (2017).
- 4) 柳原格, 名倉由起子, 吉村芳修: 生物工学会誌, **95**, 391 (2017).
- 5) M. B. Hahn : *Sci. Rep.*, **15**, 1068 (2025).
- 6) 中村昇太: 生物工学会誌, **99**, 242 (2021).
- 7) X. Piao, Y. Tang, X. Li, W. Zhang, W. Yang, X. Xu, W. Wang, J. Jiang, J. Xu, K. Hu, M. Xu, M. Liu, M. Sun, L. Jin : *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, **35**, 1 (2024).
- 8) USP : “*Analytical Procedures for Quality of mRNA Vaccines and Therapeutics*”, (Draft Guidelines : 3rd Edition), (2024).
- 9) 山本武範, 内田恵理子, 井上貴雄: 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, *PMDRS*, **54**, 300 (2023).
- 10) C. J. Vanhinsbergh, A. Criscuolo, J. N. Sutton, K. Mourphy, A. J. K. Williamson, K. Cook, M. J. Dickman : *Anal. Chem.*, **94** (20), 7339 (2022).
- 11) 小澤敬也: ウイルス, **57**, 47 (2007).
- 12) M. Gelinske, D. Blake, H. Lesnik, A. Mack, G. Stromberg, L. Belcastro, A. Schaefer, B. Clements, S. Currie, H. Hay : “*BIOPHORUM RAW MATERIALS : CELL AND GENE THERAPY CRITICAL STARTING MATERIAL, FURTHER DISCUSSION ON PLASMIDS TO ESTABLISH RELEASE SPECIFICATIONS USING A RISK-BASED APPROACH TO MANAGE SUPPLY*”, (2022), DOI:10.46220/2022CGT001.
- 13) 厚生労働省: 医薬機審発 1023 第 2 号, “遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指針”, (2023).
- 14) M. A. C. Serrano, R. Furman, G. Chen, L. Tao : *Drug Discovery Today*, **28**, 103442 (2023).
- 15) G. Bixi, M. G. Durrant, J. Ku, M. Poli, G. Brockman, D. Chang, G. A. Gonzalez, S. H. King, D. B. Li, A. T. Merchant, M. Naghipourfar, E. Nguyen, C. Ricci-Tam, D. W. Romero, G. Sun, A. Taghibakshi, A. Vorontsov, B. Yang, My Deng, L. Gorton, N. Nguyen, N. K. Wang, E. Adams, S. A. Baccus, S. Dillmann, S. Ermon, D. Guol, R. Ilango1, K. Janik, A. X. Lu, R. Mehta, M. R.K. Mofrad, M. Y. Ng, J. Pannu, C. Ré, J. C. Schmok1, J. St. John, J. Sullivan1, K. Zhu, G. Zynda, D. Balsam, P. Collison, Anthony B. Costa, T. H. Boussard, E. Ho, M. Liu, T. McGrath, K. Powell, D. P. Burke, H. Goodarzi, P. D. Hsu, B. L. Hie : *bioRxiv*, (2025), DOI:10.1101/2025.02.18.638918.



山田 尚之 (YAMADA Naoyuki)

株式会社シンプロジェン (〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 6-3-7-409)。
千葉大学大学院理学研究科修士課程修了。
博士 (農学)。《現在の研究テーマ》人工遺伝子合成、遺伝子治療、mRNA 医薬。《趣味》
美味しい食事をおいしくいただくこと。
E-mail : n_yamada@synplogen.com

水中微量成分検出のための電気化学的シグナル増幅戦略

電気化学分析法は、迅速かつ高感度な検出が可能な分析手法の一つである。さらに、標的分子を多点認識できるようにし結合定数を向上させる、前濃縮するなどの試薬構造や分析操作の工夫の他、触媒反応を利用することによって、より高感度な検出が実現できる。本稿では、メディエーターを用いることにより、電流応答シグナルを増幅した事例を紹介する。

Hu らは、カテコールキトサンハイドロゲル膜修飾電極中に、酸化還元活性を持つフェロセンジメタノール (Fc) を共存させることで、カテコールの酸化に対応した酸化電流の増幅を、ヒ素検出に応用した¹⁾。カテコールで修飾されたキトサン膜は、電子を受容・貯蔵・供与する能力を持つ。その膜中で、カテコール (QH₂) からキノン (Q) への酸化を、Fc がメディエーターとして働く酸化還元サイクルにより媒介し、電流応答を増幅することができる (図 1 (a))。修飾電極の電位を Fc の酸化電位よりも正にすれば、Fc は電極で酸化され、生じた Fc⁺ が電子をハイドロゲル膜から受け取ることで、膜の一部が還元状態 (QH₂) から酸化状態 (Q) に切り替わる。このとき Fc⁺ は Fc に戻り、酸化還元サイクルが成立する。このサイクルは、膜が完全に酸化状態に変換されるまで続く。この電極を As (Ⅲ) が存在する溶液中に浸すと、As (Ⅲ) は QH₂ の酸化過程で生じる Q およびセミキノンラジカル (QH[•]) と反応することで Fc⁺ への電子伝達を阻害させ、酸化電流が減少する (図 1 (b))。これを利用して、検出限界 0.82 ppb の高感度な As (Ⅲ) 検出が可能となった。

Zhang らは、この修飾電極を糖アルコールの一種であるエリスリトール (Eryt) の検出に応用した²⁾。2-フルオロフェニルボロン酸 (FPBA) を膜中に共存させると、QH₂ および Q とエステル形成し、Fc⁺ への電子伝

達を阻害するため、酸化還元電流は減衰した。Eryt を含む溶液に、この電極を浸すと、QH₂ に結合していた FPBA の一部が Eryt と結合するため、Fc/Fc⁺ の酸化還元サイクルが回復した。この現象を利用して、Eryt の電気化学的検出に成功した (図 1 (c))。

1) F. Hu, H. Hu, Y. Li, X. Wang, X. Shi : *Sens. Actuators. B. Chem.*, **400**, 134836 (2024).

2) X. Zhang, S. Wu, T. Feng, Y. Yan, S. Wu, Y. Chen, Y. Wang, Q. Wang, N. Hu, L. Wang : *Anal. Methods*, **16**, 1686 (2024).

〔上智大学大学院理工学研究科 佐藤 海〕

特定トポロジーのグアニン四重鎖を検出するプローブ分子

DNA といえば二重らせんのイメージが一般的であるが、Hoogsteen 型の塩基対形成により、核酸は 1 本鎖であってもグアニン四重鎖 (G4) と呼ばれる高次構造を取ることができる。DNA だけでなく、RNA にも G4 構造は形成される。その存在が細胞内で確認されたのは 2010 年代に入ってからであり¹⁾、二重らせん構造に比べると未解明な部分は多い。それでも遺伝子発現の制御や転写などの重要な役割を担い、様々な疾患にも G4 が関わっていることが分かってきた。ヒトの核酸は、これまで考えていたよりも G4 構造を取っているのかもしれない。

細胞内で G4 を検出するプローブ分子には、低毒性、膜透過性、高選択性、スイッチオン蛍光性が求められる。ところで、G4 構造には様々なトポロジーが存在する。代表的なものに、すべての鎖が同じ方向の平行型、隣り合う鎖の向きが逆のアンチパラレル型、これら両方の特徴を持つハイブリッド型がある。G4 の特定トポロジーを検出できる分子は非常に少なく、その開発はまさに挑戦的といえる。Yao らのグループが報告した G4 プローブはシアニン色素を骨格とした分子であり、負電荷を有する置換基が 2 か所導入され、他の DNA 構造への結合を抑制している²⁾。加えて精密な分子サイズのコントロールにより、平行型 G4 に対する高い選択性を実現した。また彼らは細胞株を用いた実験を行い、核と細胞質にある RNA G4 の検出にも成功している。更に彼らはこのプローブ分子を用い、がん患者の血液から抽出した RNA には G4 構造が高い濃度で存在することも明らかにした。RNA G4 はよいバイオマーカーとなりえるため、それを検出するプローブ分子は、診断技術の向上に貢献すると考えられる。

実は平行型は、他のトポロジーに比べてターゲットにしやすい構造である。さらに難易度は高くなるが、平行型以外のトポロジーを狙ったプローブ分子は可能なのか？ その分子設計コンセプトはいかに？ この分野の発展を大いに期待したい。

1) G. Biffi, D. Tannahill, J. McCafferty, S. Balasubramanian : *Nat. Chem.*, **5**, 182 (2013).

2) H. Sun, R. Sun, D. Yang, Q. Li, W. Jiang, T. Zhou, R. Bai, F. Zhong, B. Zhang, J. Xiang, J. Liu, Y. Tang, L. Yao : *J. Am. Chem. Soc.*, **146**, 22736 (2024).

〔奈良工業高等専門学校 宇田 亮子〕

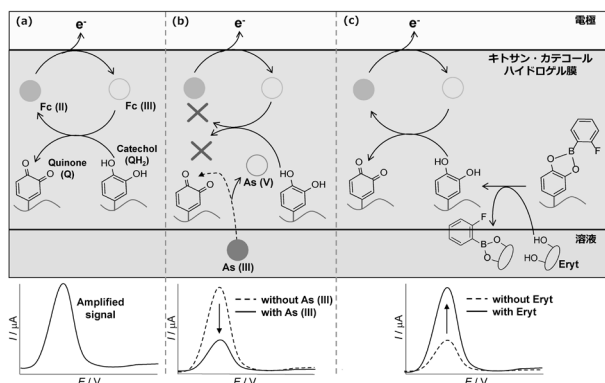


図 1 (a) シグナル増幅メカニズムと (b) ヒ素または (c) Eryt 検出のメカニズム



リケジョのバトンをつなぐ

中村学園大学の沖智之先生からバトンを受け取りました。西九州大学の安田と申します。沖先生とは学会でたびたびお会いするご縁があり、今回ご紹介いただきましたこと、心より感謝申し上げます。

私は、佐賀大学在学中に田端正明先生の研究室に所属し、分析化学の面白さにのめり込みました。研究テーマは「塩析による相分離現象」。一見混ざり合っているような液体が、ある条件下で突然ふたつに分かれるという不思議な現象に強く惹かれ、昼夜を問わず実験に没頭していた日々を、今でも鮮明に覚えています。

この学生時代の研究の積み重ねが評価され、私は女性として初めて「九州分析化学奨励賞」を受賞する榮譽に恵まれました。記念としていただいた「女神の盾」は、今でも私の研究の原点を思い出させてくれる大切な象徴となっています。

分析化学で培った知識と技術は、その後、食品分野へと進んだ私の研究人生においても大きな礎となっています。対象が変わっても、「見えないものを可視化する」という分析化学の本質は変わりません。分析化学の視点が、今の私の研究活動にも深く影響を与えています。

私自身の原点を振り返る中で、理系分野で活躍する女性たち、いわゆる「リケジョ」について、より広い視点で考えるようになりました。日本では、理系分野における女性研究者の割合は、先進国の中でも依然として低いのが現状です。近年、理系学部に進学する女子学生数は増加傾向にあるものの、大学院進学や研究職への就職は依然として少なく、大きな課題となっています。社会的・制度的な壁が残されており、女性研究者がもっと活躍できるよう、環境を整えることが強く求められています。

日本における最初のリケジョのひとりとして知られるのが黒田チカです。彼女は1884年に佐賀県で生まれ、日本初の女子大学生として東北帝国大学（現在の東北大学）理科大学化学科に入学しました。しかし、当時の文部省からは女子の入学に対する反発の書状が届き、入学後も男子学生から排斥運動が起きるなど、困難な状況下での学生生活を余儀なくされたといわれています。それでも彼女は、紅花やタマネギなどの植物色素の研究に打ち込み、女性として日本で2番目の理学博士号を取得しました。その陰には、彼女のたゆまぬ努力に加え、理解あ

る師や周囲の支援があったことも想像されます。

私自身もまた、進路選択の際に性別による壁を感じた経験があります。高校時代には「女子は文系を選ぶのが望ましい」といった進路指導を受け、その影響もあって、理系に進んだ女子生徒はわずか6人でした。大学の化学科では女子学生が半数近くを占めていたものの、大学院に進んだのは少なく、アカデミックポストに就いたのは私一人でした。

このような経験を通じて、理系を志す女子中高生がさらに増え、自信を持って一步を踏み出せるような環境づくりの重要性を強く感じるようになりました。そうした思いから、現在、他大学と連携し、女子中高生の理系進路を支援する「リケジョプロジェクト」に取り組んでいます。リケフェスと呼ばれる理系体験イベントや出前講義を通じて、先輩リケジョたちがロールモデルとなり、理系分野の魅力ややりがいを伝えています。

では、日本分析化学会における女性研究者の現状はどうでしょうか。本学会では、女性研究者ネットワークの設立、学会誌『Analytical Science』の女性研究者特集号の発行、女性の活躍を称える「女性 Analyst 賞」の創設、さらには年会における託児所の設置など、女性研究者への支援が着実に進められています。中でも、託児所の設置は子育て中の研究者にとってありがたい取り組みです。私自身も息子が幼かった頃、学会に連れて行き、講演中は会場の外のベンチで待たせていたため、集中して発表に臨むことができなかったことを思い出します。

とはいえ、最終的に私が願っているのは、リケジョという言葉自体が過去のものとなり、単に分析化学を志す一人の研究者として自然に認められる未来です。性別による区別を超えて、お互いの才能や努力が正当に評価され、誰もが自信を持って能力を伸ばし、次世代へとそのバトンを確実につなげられる社会の実現を心から望んでいます。

今回のリレーエッセイは、本学子ども学部の飯盛啓生先生にお願いしました。飯盛先生は、分析化学を基礎として、地球環境科学や理科教育に関する研究に取り組まれています。ご多忙の中、快くお引き受けいただき、ありがとうございます。どんなエッセイを書かれるのか、今からとても楽しみにしています。

〔西九州大学 安田 みどり〕



インフォメーション

長谷川亭パーティー人生談話会 ～亭主を励ます会の巻～

(公社)日本分析化学会(JSAC)をプラットフォームにした正式な集まりとしては、支部と研究懇談会が代表的です。これに対して、JSACの会員から成るアングラ的な集まりの一つに表題の会があり、専門や学部を超えた方々が年に1回ほど長谷川佑子先生のお宅に集まることを10年以上続けています。アングラ的と表現したのは、個人のお宅を会場としているため、「ぶんせき」誌上に参加者募集の会告が出せないからです。この会の起源に関しては詳らかではありませんが、長谷川先生のご記憶では『中村ラインが発端で多分、分析化学討論会が年会の懇親会かで中村先生と周りにいた方(私もいたはず)とで話がまとまったのだと思います』とのこと。そう言われてみれば、状況的には20種類くらいの人生談話会が発足した段階で、ヒューマンネットワーク構築の観点から積極的なご参加を私が会員に呼びかけた2009年頃¹⁾かもしれません。いずれにせよ、2014年3月17日には「パーティー人生談話会」(長谷川佑子会長)として開催されており、参加者は赤岩英夫先生(群馬大)を始め、現在とほぼ同じメンバーとなっており、富永健先生(東大)も参加されておられました。また、ある年の夏には、エレベーターで長谷川邸の4階屋上に出て、遠くの花火大会を楽しんだことも懐かしい思い出です。

さて、JSAC・高齢会員の正式な会としては2010年に発足した生涯分析談話会があり、地区の重鎮からありがたい講演を伺った後、情報交換会を行っています。これに対して、表題の会では長谷川先生と赤岩先生の人脈で気が置けない仲間が長谷川先生宅に集まり、お手製の美味しい料理と飲み物をいただきながら、とりとめもない話をして人生を楽しんでいます。昨年の集まりでは、長谷川先生が腰を痛められた状態で亭主を務められていた記憶が強かったため、今回の集まりは～亭主を励ます会の巻～と副題を付けた次第です。今年の5月に愛媛大学で行われた第85回分析化学討論会(5/31～6/1)の折、有志の間で討論会と年会の間に長谷川亭パーティーを開こうと計画しました。ところが、今年は最適月の7月も猛暑が衰えず、やむなく8月27日(水)の13:30から～亭主を励ます会を始める事を関係者にメールでお知らせしました。参加申し込みが

遅れた方には申し訳ないことでしたが、座席の数が足りずご遠慮いただくざるを得ませんでした。当日の参加者(五十音順、敬称略、所属は定年時)は井村久則(金沢大学)、小熊幸一(千葉大)、楠文代(東京薬科大)、澤田清(新潟大)、田端正明(佐賀大)、角田欣一(群馬大)、中村洋(東京理科大)、長谷川佑子(東京理科大)、藤原祺多夫(東京薬科大)、保母敏行(都立大)、保母政子、松本和子(早稲田大)、本水昌二(岡山大学)、矢野良子(東京高専)の14名でした(写真1)。



写真1 参加者の集合写真
(井村先生によるスマホの自動撮影)

長谷川亭パーティーの特徴は、毎回食べ切れないほどさまざまな料理を出して戴き、宴席の後ろの酒蔵には誰かが何年か前にお土産に持参した吟醸酒、純米酒、ワイン、ウイスキー、モンゴル酒などがごろごろ並べられており、お好みを勝手に選んで飲める満足感と開放感を味わえることです(特にお強いのは保母先生と本水先生)。今年のオープニングは、井村先生がシャンパンを開封し、保母先生の乾杯の音頭で始まりました。着席した卓上には隙間なくさまざまな料理が並べられており、自然にあちこちで歓談が始まりました。ちなみに、長谷川先生が連日の猛暑日に耐えて調理してくださったメニューは以下の9種類でした: 1. たたき胡瓜の甘酢和え、2. 五目炒り豆腐、3. 肉団子の黒酢餡、4. アボガドディップのサーモンのせ、5. アスパラのサラダ&蟹玉クリームソース、6. こんにゃくの炒め、7. トマトと海老の卵炒め生姜餡、8. しゅうまい、9. 酢豚パイナップル入り。これらに加え、女性陣が持参された手料理や果物、男性陣からのアルコール類、地方のお土産などでテーブルが賑わいました(写真2参照)。長谷川亭のメニューは、ご本人によると『初期の頃は江上料理学院で習ったノートを見ながらメニューを考え、今よりずっと手の込んだものをお出ししていたようですが、今は簡単料理ばかりで大いに反省』と謙遜されていますが、参加者が毎回大いに満足して帰られるのが、私が「長谷川亭」と言い出した所以です。

パーティーのご案内をメンバーに差し上げた頃、長谷川先生から『もうこれで最後のパーティーかも知れないから、ぜひ大勢に集まっていたきたいです』と気弱なメールを受け取りました。思い返しますと、筆者が初めて長谷川邸に伺ったのは、



写真 2

(保母先生による料理群の撮影。向かって左手前が厨房、右手奥が酒蔵)

理科大に赴任(1994年)してまもなく、理学部の関根達也先生がオーガナイズした分析科学セミナーに講師として招かれた日でした。セミナー終了後、集められた講師・スタッフに関根先生が労いの言葉をかけられ、30分ほどであっけなく慰労会が終わってしまいました。ここで、セミナー参謀役の長谷川先生が夕餉の時刻であったこともありTPOを気遣われたのか、同じく講師を務められた本水先生と酒井忠雄先生(愛知工大)を誘ってわれわれ3名を車でご自宅に連行し、ありがたいことに夕飯から翌日の朝食まで振舞ってくださいだったのでした。ちなみに、長谷川邸に逗留されたのは日本人ばかりではなく、長谷川先生の留学先のボスであるProf. Gregory R. Choppin(フロリダ州立大, FSU)や日露分析化学シンポジウム関係で来日されたProf. B. F. Myasoedov(ロシア科学アカデミー)もお世話になったとお聞きしています。料理を作ることをこよなく楽しみ、人が集まることを無邪気に喜ばれる長谷川先生が、来年以降は手作り料理の心配をせず、会長としてお元気でパーティー人生談話会の亭主を務めてくださることをメンバー一同より祈念しております。

1) 中村 洋: ぶんせき (Bunseki), 2009, 387-388.

[東京理科大学 中村 洋]



2025 年度 CERI クロマトグラフィー分析賞受賞者

本賞は、(公社)日本分析化学会・液体クロマトグラフィー研究懇談会(LC懇)が「液体クロマトグラフィーを利用した研究分野で優秀な研究成果を挙げた者に授与する」と規定する褒賞であり、(一財)化学物質評価研究機構(Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan, CERI)の協力を得て2018年度より運用を開始している。2025年度は、本年8月末日を期限として候補者の推薦公募を行った。期日までに提出された候補者の推薦理由書、研究業績等を基に、選考委員会(9月1日)で審議した結果、LC懇アドバイザーを務める元帝京大学薬学部教授の馬渡健一氏(推薦者:筆者)を受賞候補者として選出した。2025年度LC懇第6回拡大運営委員会(9月19日)において、選考委員長より上申された上記結果を協議した結果、馬渡氏への授賞が正式に承認された。馬渡氏の研究業績名は、「光照射反応と蛍光検出 HPLC システムによる生体成分及び薬物定量法の開発」である。以下、馬渡氏の研究歴に触れた後、授賞の対象となった研究業績の概要を紹介する。

研究業績の概要

馬渡氏は1978年4月に帝京大学薬学部に入學し、1982年に大学院薬学研究科博士課程(前期)にて渡邊光夫教授の指導の下、トリプトファン代謝産物の熱反応による蛍光誘導体化のテーマで研究を行った。その後、横浜市衛生研究所変異原室への就職を経て1986年、帝京大学薬学部薬品分析学研究室に助手として採用され、キヌレン酸を過酸化水素共存下で光照射すると強い蛍光を示すことを見いだした。当時、市販品が出始めたHPLC装置と蛍光検出器を組み合わせ、今まで測定が困難であった血清中キヌレン酸の測定方法の開発を行い注目された。さらにトリプトファン代謝物および類似構造を持つ薬物の光誘導体化反応によるHPLC測定法に関する研究で成果を収め、「過酸化水素・光照射蛍光定量法の開発」の題目で1993年に東京大学大学院薬学研究科で博士(薬学)を取得した。その後も光誘導体化の研究を行い、渡邊光夫教授の定年退職に伴って2002年に新たに赴任した中込和哉教授の下、2-ピリジンカルボン酸が酢酸亜鉛共存下で光照射すると発蛍光する方法を見いだすとともに、包接能を有する18-Crown-6を移動相へ添加する分離方法の開発にも成功した。中込教授が定年退職してからは、薬学教育センター・基礎実習ユニットの教授に昇進し、医薬品分析学研究室を兼任しながら分離方法の研究を進め、高極性化合物であるキノリン酸とピコリン酸の分離分析にも成功している。

さて、馬渡氏の液体クロマトグラフィー分野での研究は、トリプトファン代謝物であるキヌレン酸の測定法の開発から始まった。1987年当時、キヌレン酸の測定は難しく尿試料では前処理を何段階か組み合わせて用手法により測定がなされていて、血清試料の測定には有効な定量法がなかった。ところが、キヌレン酸は過酸化水素共存下でブラックライトを照射すると強い蛍光を示すことを見いだした。この反応をHPLCに応用するために、移動相に35 mmol/L 過酸化水素とメタノールを

添加し、分離カラムと 300~400 nm の波長の光源（蛍光管）となるブラックライトにテフロンチューブを巻き付けた光照射装置を取り付けて蛍光検出するシステムを創案し、血清中や尿中キヌレン酸の測定方法を確立することができた。さらに、トリプトファン代謝物の発蛍光反応を調べると代謝経路ごとに反応条件の設定が可能であることが判明し、キヌレニン経路では過酸化水素・メタノール共存下に、セロトニン経路の 5-ヒドロキシインドール化合物では塩基性下でアセトニトリルの共存下で、また、5-メトキシインドール化合物は過酸化水素とアセトニトリル共存下で、それぞれ光照射反応による蛍光定量を可能とした。これらの定量法は、反応条件と分離条件を整合させて HPLC に応用し、原則としてポンプ 1~2 台を用いた光照射反応システムにより、①移動相への試薬の添加、②各種カラムによる分離、③蛍光誘導体化、④蛍光検出、の 4 段階で測定物質に対して特異性の高い方法であった。その結果、検出感度の向上により血清は除タンパクのみ、尿は希釈のみで定量が可能となった。また、本法をトリプトファン代謝物と類似構造を有する薬物の血中や尿中濃度の測定法に応用し、たとえば、5-メトキシインドール誘導体であるインドメタシン（抗炎症剤）の血清中濃度、ナフチリジン骨格を有するナリジクス酸（尿路感染症治療薬）の尿中濃度の測定法を開発した。また、ピリジンカルボン酸誘導体であるイソニアジド（抗結核薬）の尿中代謝物を定量することで不活性化指数を求め、アセチル化能フェノタイプ判定方法を開発した。

分離技術については、18-Crown-6 を移動相に添加して、吸着力の強いカラムで *N*¹-メチルニコチンアミドを定量する際、ピーク形状の補正やクロモンの 2 量体であるクロモグリク酸ナトリウム（抗アレルギー薬）の単量体との分離を可能にする方法を開発した。クラウンエーテルを活用したこの分離法は、後日、キヌレニンとキヌレン酸の同時定量において、キヌレン酸の保持時間をカリウムイオン濃度の調節により自由に動かすことを可能とし、キヌレニンとの同時定量法を確立に繋がった。さらに、2-ピリジンカルボン酸誘導体については、酢酸亜鉛共存下で光照射により蛍光を発することを見出し、納豆中の有用成分であるジピコリン酸の定量法に応用できた。以上、馬渡氏は光照射を用いた蛍光誘導体化反応とともに HPLC の分離技術を開発することで、多数の有用な定量法の開発に成功している。

LC 分野における継続的な教育的社会貢献

一方、馬渡氏に関しては、出身大学の卒業生として講師以上に昇進した初めての例と聞き及んでいる。この話は研究能力もさりながら、温厚な人柄に加え教育者としての資質が認められた結果であろう。薬学教育モデル・コア・カリキュラム中の学生の研究においても、学生とともに研究を進め、日本薬学会年会や LC 研究懇談会が主催する LC テクノプラザなどの発表の場において、学生に積極的に発表させることに代表される。一貫した啓育的な姿勢が高く評価された結果と思われる。事実、馬渡氏のグループは長年に渡る LC テクノプラザの歴史においても、たびたびベストプレゼンテーションを受賞しており、LC 研究懇談会への著しい貢献により、馬渡氏は同懇談会のアドバイザーを委嘱されている。

以上のように、馬渡健一氏の誘導体化 HPLC 分野の発展に対する技術的・学術的貢献、並びに本研究懇談会を中心とする学会活動を通じた教育的・社会貢献は高く評価され、CERI クロマトグラフィー分析賞授賞に相応しい人物と評価された。

なお、馬渡氏の業績に関する詳細は、LC 研究懇談会の電子ジャーナル「LC と LC/MS の知恵」第 11 号（2025 年 12 月 15 日発行予定）に掲載し、受賞講演と表彰・副賞の授与は第 31 回 LC & LC/MS テクノプラザの初日（2026 年 2 月 18 日、北とぴあ・ペガサスホール）に行う予定である。2025 年 9 月 20 日記。

〔液体クロマトグラフィー研究懇談会・委員長 中村 洋〕



2025 年液体クロマトグラフィー科学遺産認定

（公社）日本分析化学会・液体クロマトグラフィー研究懇談会（LC 懇）は、2018 年度より「液体クロマトグラフィー科学遺産」の認定事業を開始し、8 年目の本年は 8 月末日を期限として推薦公募を行った。期日までに提出された複数の推薦書につき、2025 年液体クロマトグラフィー科学遺産認定委員会（9 月 9 日）で審議した結果、太田茂徳氏（LC 懇個人会員番号：LC1A23004、ジーエルサイエンス㈱）推薦の「HPLC 用カラム Inertsil シリーズ」（所有者：ジーエルサイエンス㈱）を液体クロマトグラフィー科学遺産第 8 号候補として選出した。2025 年度 LC 懇第 6 回拡大運営委員会（9 月 19 日）において、認定委員会委員長より上申された上記結果を審議し、これを承認した。「液体クロマトグラフィー科学遺産」とは、その認定に関する規定第 2 条に、「日本における液体クロマトグラフィーの発展にとって、歴史的な観点から顕著な貢献があったと認められるものを指す」と定義されている。認定第 8 号となった「HPLC 用カラム Inertsil シリーズ」の認定理由の概要を以下に示す。

HPLC カラムの開発において、吸着の要因となる母体シリカゲル中の残存シラノール量の軽減は、対象物質をシャープに溶出するためには必須な技術である。ジーエルサイエンス㈱は「Inert」、すなわち不活性の名を冠した HPLC カラム Inertsil を長年にわたり開発、発表してきた。創業当時ガスクロマトグラフィー用充填剤の開発からスタートしたガスクロ工業（ジーエルサイエンスの前身）は、固定相担体に用いられる表面処理技術、評価方法を蓄積していた。その技術を液体クロマトグラフィー用充填剤開発に適応させ、高い不活性度処理を施したシリカゲルを特徴とした初代の Inertsil ODS を 1986 年に発表した。その後さらに不活性度を向上させ、高純度シリカゲルを母体とした Inertsil ODS-2 を 1987 年に発表した。

分析目的成分を効果的に分離させるには、一般的に保持が強いカラムほど有利であり、ODS 結合量を増やすほど保持が強くなる傾向にある。一方で結合層が厚くなりすぎると、理論段数が低下したり、水溶液の割合が多い溶離液では保持が得られなくなったりするなど、種々の問題が生じてしまう。これらの問題を解消する一つの方法として、表面積の大きい母体を用いることが挙げられ、高純度テトラエトキシシランを用いたゾル-ゲル法にて、自社オリジナルのシリカゲルを新規開発し、

1994年にInertsil ODS-3を発表した。残留金属が極めて少ないシリカゲルから作製されたODSカラムは、金属配位性化合物もシャープに溶出し、かつ効果的なエンドキャップ処理により、残存シラノール量も大幅に低減、高分離、高耐久、高不活性を実現している。さらに、この新規母体を活用し、修飾密度の変更を行ったカラムや、フェニル基、HILIC用の官能基を結合したさまざまなカラムをInertsilシリーズとしてラインアップし続けている。ここで、母体のシリカゲルから製品フォローまですべて自社で行うというコンセプトを基に、シリカゲルの不活性化処理の改善改良に努め、長年にわたり、液体クロマトグラフィーの発展に貢献してきた同社の実績はユーザーの信頼に応えるものである。また、品質が安定した製品を提供し続けてきた事実は、液体クロマトグラフィー科学遺産に値されるものと高く評価された。

なお、認定第8号に関する詳細は、LC研究懇談会の電子ジャーナル「LCとLC/MSの知恵」第11号（2025年12月15日発行予定）に掲載し、認定講演と表彰は第31回LC&LC/MSテクノプラザの初日に行う予定である（2026年2月18日、北とびあ・ベガスホール、東京都北区）。また、2025年の認定委員会委員は以下の11名である（◎印：委員長）：伊藤誠治（東ソー）、井上剛史（北浜製作所）、榎本幹司（栗田工業）、太田茂徳（ジエールサイエンス）、岡橋美貴子（臨床検査基準測定機構）、熊谷浩樹（LCシニアクラブ）、清水克敏（日立ハイテクサイエンス）、竹澤正明（東レリサーチセンター）、◎中村 洋（東京理科大学）、西岡亮太（LCシニアクラブ）、三上博久（島津総合サービス）。2025年9月20日記。

〔LC研究懇談会・委員長 中村 洋〕



2026年液体クロマトグラフィー努力賞

標記努力賞は1995年、液体クロマトグラフィー研究懇談会に制定された若手・中堅会員に対する褒賞制度であり、「液体クロマトグラフィーに関する研究・技術が独創的であり、将来を期待される研究者・技術者が受賞の対象」とされている。今回は2025年8月末日を期日として推薦を募った。2025年9月2日より開催された標記授賞候補者選考委員会において協議した結果、(株)日立ハイテクアナリシス所属の清水克敏氏（推薦者：熊谷浩樹氏、LCシニアクラブ）を受賞候補者に決定した。この結果を2025年度第6回拡大運営委員会（9月19日）に上申・協議した結果、清水氏への授賞を正式に決定した。研究業績名は「UHPLCの感度特性と分離特性の関係に関する研究、及び食品評価法の開発」である。以下、清水氏への授賞対象となった研究業績の概要を紹介する。

清水氏は、(株)日立サイエンスシステムズ（現日立ハイテクアナリシス）に入社後、一貫してHPLCおよびUHPLCのアプリケーション開発やシステム開発等に従事してきた。特に、UHPLCの感度特性と分離特性の関係について考察し、UHPLC特有の作用があることを明らかにした。また、食品および飲料を対象としてHPLCを含む各種分析手法による分析データの評価に関しても、成果を発表している。以下に、詳細を記す。

1) UHPLCの感度特性と分離特性の関係

UHPLC（Ultra High Performance Liquid Chromatography）はいかに高感度に寄与するのか、単にカラム断面積を縮小するセミマイクロLC化による移動相の体積縮減だけでは説明できないUHPLC特有の効果が潜んでいると考えられる。UHPLCは粒径2 μm 前後の微細充填剤を用いることにより、高速化、高分離化を図るHPLCである。充填剤の微細化はカラム圧の上昇を伴うため、60 MPa以上の耐圧を有する分析システムが必要となった。UHPLCシステムは、高速・高分離化以外に高感度化にも貢献すると言われている。その理由を検討するために、清水氏は感度特性を可視化する手法を検討した。

HPLCの分離特性を可視化する方法はいくつか報告されており、たとえば、線速度 u_0 (m/s) とカラム長 L (m) を操作条件として、分離特性を示す理論段数 N を z 軸とする3次元グラフがある。検討した手法では、まず z 軸の分離特性を感度特性に置き換えたような操作条件 u_0 と L の3次元グラフを作成する。次に3番目の操作変数としてカラム充填剤の粒径 dP (μm) を導入して検討を拡張する。最終的に、分離特性を示す N と dP を入力変数として、感度特性を z 軸として出力とする3次元グラフを生成することにより、分離特性と感度特性の関係を同時に可視化することができた。さらに、同様な3次元グラフをいくつか用いることにより関連する変数の関係も解析できた。とりわけ、 z 軸を圧力損失とする可視化は、UHPLCの分析条件最適化に有用であることがわかった。

UHPLCの感度特性を可視化した結果、感度特性に関する因子には2種類あることがわかった。一方はカラム断面積を縮小する所謂セミマイクロLC化の因子であり、他方は新たに感度指標として導入した高長積 Σ からの寄与である。理想的には前者のセミマイクロLC化は分離特性には影響しないが、 Σ は分離特性の N と相反関係にある。一定の N を確保する条件で望小特性の Σ を改良するためには、粒径を小さくする必要がある。この関係を可視化するために N と粒径を入力底平面として、 Σ を z 軸とする3次元グラフを表示した。また、同一底平面上の z 軸を圧力損失に替えて、 Σ に連動する圧力の上昇度も可視化できた。 Σ の改良には、UHPLCを特徴づける充填剤の微細化とそれに伴う圧力の印加が不可欠であることが理解できた。

2) HPLCを含む各種分析手法による食品評価法の開発

日本酒は米、米麹及び水を原料として発酵させたアルコール飲料であり、アミノ酸や有機酸、糖類、ミネラルなどさまざまな微量成分が含まれている。日本酒の味わいを評価する目安として、糖類などを中心とした成分の比重を示した日本酒度、有機酸量を示した酸度、約20成分のアミノ酸量を示したアミノ酸度がある。日本酒の味わいは、これらの数値とアルコール度数などが組み合わされて判断されるが、個々の化合物との関連を調べた例は多くない。そこで、清水氏は日本酒の呈味にかかわる糖、有機酸、アミノ酸を高速液体クロマトグラフおよびアミノ酸分析計を用いて分析し、定量結果から味わいとの関係性を調べた。その結果、糖は、大部分をグルコースとイソマルトースが占めた。また、麹を使用した発酵食品に特徴的にみられるコージビオースを検出した。有機酸では、乳酸やコハク酸

などの日本酒に代表的に含まれる有機酸が検出された。アミノ酸については、甘味を示すアラニンがアミノ酸総量の12~18%含まれており、糖だけでなくアミノ酸も日本酒の味わいに関与していることが示唆された。これらの分析結果と味わいとの相関を確認するため、呈味に関与する成分をレーダーチャートにまとめたところ、形状が大きく2タイプに分類された。この分類は、今後日本酒の味を評価する手掛かりとなる可能性がある。

次に、無機元素とアミノ酸の相関性を評価したところ、アラニン、グリシン、アスパラギン酸はリン、硫黄、マグネシウムとの相関を確認することができた。同様に蛍光指紋で得られた蛍光情報との回帰分析を行ったところ、蛍光指紋では350 nm, 400 nm, 525 nm付近に蛍光が確認され、アスパラギン酸とアラニンの相関係数は0.9以上であった。蛍光指紋については主成分分析を行ったところ、日本酒の精米歩合が小さくなるについてプロットが右に移行する特徴が観られた。各種分析装置の

結果の相関性を評価することにより、日本酒を評価し、味わいの相関関係を確認した。また、清水氏が開発した手法は他の食品類にも適用可能であり、今後さまざまな食品の呈味評価に有効であると考えられる。

なお、清水克敏氏は、液体クロマトグラフィー研究懇談会の役員に2017年に就任し、現在は運営委員と力として、液体クロマトグラフィー研究懇談会の活動に積極的に参加している。以上、清水克敏氏の研究活動と業績は、2026年液体クロマトグラフィー努力賞に相応しいと評価された。

なお、清水氏の業績に関する詳細は、LC研究懇談会の電子ジャーナル「LCとLC/MSの知恵」第11号(2025年12月15日発行予定)に掲載し、受賞講演と表彰・副賞の授与は第31回LC&LC/MSテクノプラザの初日(2026年2月18日、北とぴあ・ペガサスホール)に行う予定である。2025年9月20日記。

[LC研究懇談会・委員長 中村 洋]

執筆者のプロフィール

(とびら)

井倉 則之 (IGURA Noriyuki)

九州大学大学院農学研究院 (〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡744)。九州大学大学院農学研究院修士課程。博士(農学)。《現在の研究テーマ》エマルションの物性と香気放散挙動。

E-mail: igura@agr.kyushu-u.ac.jp

(ミニファイル)

橋本 剛 (HASHIMOTO Takeshi)

上智大学理工学部 (〒102-8554 東京都千代田区紀尾井町7-1)。上智大学大学院理工学研究科化学専攻。博士(理学)。《現在の研究テーマ》超分子化学・金属錯体・電気化学を用いた分子認識方法の開発。《趣味》オーケ

ストラでのクラシック演奏(チェロ)。

(トビックス)

佐藤 海 (SATO Kai)

上智大学大学院理工学研究科理工学専攻博士後期課程 (〒102-8554 東京都千代田区紀尾井町7-1)。上智大学大学院理工学研究科理工学専攻博士前期課程修了。修士(理学)。《現在の研究テーマ》超分子複合体を用いた電気化学センサーの開発。《趣味》散歩、サイクリング、読書。

E-mail: k-sato-8u9@cagle.sophia.ac.jp

宇田 亮子 (UDA Ryoko)

奈良工業高等専門学校 (〒639-1080 奈良県大和郡山市矢田町22)。大阪大学大学院理工学研究科物質生命工学専攻博士前期課程修了。博士(工学)。《現在の研究テーマ》トリフェ

ニルメタン誘導体と分子集合体または核酸との相互作用。《主な著書》“Malachite Green: Properties and Uses”。(Nova Science Publishers, New York), (2020), ISBN: 978-1-53617-800-5。《趣味》旅行、子供と家で行う科学実験。
E-mail: ryoko@chem.nara-k.ac.jp

(リレーエッセイ)

安田 みどり (YASUDA Midori)

西九州大学健康栄養学部 (〒842-8585 佐賀県神埼市神埼町尾崎4490-9)。佐賀大学大学院工学系研究科化学専攻修士前期課程修了。博士(理学)。《現在の研究テーマ》食品の機能性や物性に関する研究。《趣味》筋トレ。

E-mail: midori@nisikyu-u.ac.jp

目 次

特集「拡がる！分析化学と溶液化学の境界」：報 文	
凝縮系の低振動数領域における赤外・ラマン相補性の破れ	天羽優子 579
年間特集「環」：報 文	
ダイオキシン類の汚染源別大気降下量の推算	落合祐介・蓑毛康太郎・大塚宜寿 587
魚類中揮発性メチルシロキサン分析法の開発と環境汚染評価への適用	堀井勇一・蓑毛康太郎 593
年間特集「環」：技術論文（初執筆論文）	
計量法トレーサビリティ制度による陰イオン界面活性剤混合標準液の供給を目指した高精度校正技術の確立	田原佳子・山崎太一・中村哲枝・沢田貴史・伊藤信靖・上野博子 603
年間特集「環」：アナリティカルレポート	
波長分散型蛍光エックス線分析法による地質試料中の臭素及びヨウ素濃度の測定	渡邊隆広・木田福香・山崎慎一・山岸裕幸・落合伸也・松中哲也・奈良郁子・土屋範芳 611
モル吸光係数に基づく相対感度を用いた高濃度アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液の定量	山崎太一・中村哲枝・田原佳子・上野博子・伊藤信靖 621
年間特集「環」：テクノレポート	
ポリ塩化ビニル（フタル酸エステル類分析用）認証標準物質に含まれるフタル酸ジイソブチルの追加認証	— NMJ CRM 8152-b(02) 及び NMJ CRM 8156-a(02) —
	羽成修康・折原由佳利・松山重倫・中村圭介・山崎絵理子・山崎太一・北牧祐子・伊藤信靖 627
総合論文	
有機炭素資源利用プロセス開発への熱分解ガスクロマトグラフィーの応用	熊谷将吾・吉岡敏明 635
生体中のコレステロール合成・吸収マーカー、代謝物定量法の開発と臨床応用	中川沙織 645
報 文（初執筆論文）	
赤外分光と量子化学計算による鉄鉱石中リン吸着ゲルサイトの化学構造解析	川並園実・村尾玲子・松崎洋市 653
報 文	
親水性相互作用クロマトグラフィーによる医薬品原薬の活性本体とその対イオンの同時定量による品質評価	門脇宥紀葉・前田里奈・上野茉莉・川畑公平・西 博行 665
コアシェル型逆相 HPLC カラムを用いる生薬成分ベルベリンの迅速品質評価での THF と Biphenyl カラムの有用性	西 博行・野村彩乃・武田朋子・河野早苗・川畑公平 673
技術論文	
高温・高湿度環境制御下でのその場放射光分析用加熱・加湿チャンバーの開発	湯峯卓哉・杉山武晴・石岡寿雄・原田 明 681
ノ ー ト（初執筆論文）	
低速攪拌法を用いる界面活性剤の 1-オクタノール/水分分配係数測定	小黒かく・篠崎裕哉・近藤啓子・藤原亜矢子・櫻谷祐企 687
ノ ー ト	
パルス NMR によるスピンスピン緩和時間の可視化解析法の提案	吉田福蔵・大西政宏・森内(川上)隆代 695
「分析化学」編集委員会特集“分析化学の次世代を担う若手研究者”の論文募集	705
「分析化学」年間特集“波”論文募集	706
「分析化学」特集“未来を拓く熱分析”の論文募集	708
“第 24 回初執筆論文特集”募集のお知らせ	709
「分析化学産業技術論文賞」のご案内	710
テンプレートによる投稿要領	711
「分析化学」に投稿される皆様へ	712

「分析化学」誌ホームページ URL=<https://www.jsac.jp/~wabnsk/index.html>

〔 〕 〈学術著作権協会委託〉 本誌からの複写許諾は、（公社）日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、一般社団法人学術著作権協会（〒107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 乃木坂ビル 3 階、FAX：03-3475-5619、E-mail：info@jaacc.jp）から受けてください。

◇2025年のノーベル生理学・医学賞は「免疫応答を抑制する仕組みの発見」に貢献した、坂口志文先生ら三氏が受賞されました。さらに、ノーベル化学賞は「金属有機構造体 (MOF) の開発」に貢献した、北川進先生ら三氏が受賞されました。日本人の先生がダブル受賞されたことをたいへん喜ばしく思います。

◇11号「とびら」では、九州支部長の井倉則之先生に、専門分野を超えた交流の重要性についてご執筆いただきました。また「リレーエッセイ」では、西九州大学の安田みどり先生に、リケジョプロジェクトや、本学会が実施している女性研究者支援の取り組みをご紹介します。ちょうど政界では憲政史上初の女性総理誕生があり、「性別による区別を超えて、お互いの才能や努力が正当に評価される (中略) 社会の実現」というエッセイ中の一節に大きな前進があったのではないのでしょうか。

◇毎年11号には特集記事を掲載しています。今年は「分析化学の貢献を期待して～異分野領域の最新研究～」というテーマで、多数の記事をご執筆いただきました。紹介されている異分野のトピックが、読者の皆様にとって、現状の課題を克服する新しい発想のきっかけになりましたら幸いです。

[K. T.]

〈とびら〉

情報と分析化学……………四宮 一総

〈入門講座〉 分析におけるコンタミネーション・キャリアオーバー対策

環境水分析で気を付けること……………岡村 慶・野口 拓郎

〈解 説〉

地球外物質中の有機物の分析……………癸生川 陽子

〈ミニファイル〉 分析用試薬

試薬の廃棄……………橋本 剛

◇ 編 集 委 員 ◇

〈委員長〉 四 宮 一 総 (日 本 大 学)

〈副委員長〉 稲 川 有 徳 (宇都宮大院地域創生科学)

〈理 事〉 山 口 央 (茨 城 大 理)

〈幹 事〉 糟 野 潤 (龍谷大先端理工)

原 賀 智 子 (日本原子力研究開発機構)

〈委 員〉 石 橋 千 英 (愛媛大院理工)

北 牧 祐 子 (産業技術総合研究所)

鹿 籠 康 行 (東北大学金属材料研究所)

原 田 誠 (東京科学大理学院化学)

山 口 浩 輝 (味の素 (株))

高 橋 豊 (E&Mソリューションズ)

上 田 忠 治 (高知大農林海洋科学)

久保田哲央 (アジレント・テクノロジー・インターナショナル)

岡 崎 琢 也 (工学院大先進工)

坂 真 智 子 (株) エ ス コ

角 田 誠 (東 大 院 薬)

半田友衣子 (埼 玉 大 工)

三 原 義 広 (北海道科学大薬)

勝 又 英 之 (三 重 大 院 工)

高 橋 幸 奈 (丸大カーボンニュートロ)

橋 本 剛 (上 智 大 理 工)

岡 林 識 起 (日大生物資源科学)

佐 藤 惇 志 (株) ラ イ オ ン

西 崎 雄 三 (東洋大食環境科学)

村 山 周 平 (昭和医科大薬)

大 江 知 行 (東 北 大 院 薬)

萩 森 政 頼 (武庫川女子大薬)

☐ 複写される方へ

日本分析化学会は学術著作権協会 (学著協) に複写に関する権利委託をしていますので、本誌に掲載された著作物を複写する場合は、学著協より許諾を受けて複写してください。

〒107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 乃木坂ビル 3 階
一般社団法人 学術著作権協会

FAX: 03-3475-5619 E-mail: info@jaacc.jp

なお、複写以外の許諾 (著作物の転載願い等) は、学著協では扱っていませんので、直接日本分析化学会へお尋ねください。

ぶんせき 2025 年 第 11 号 (通巻 611)

2025 年 11 月 1 日印刷

2025 年 11 月 5 日発行

定価 1,000 円

編集兼発行人 公益社団法人 日本分析化学会

印 刷 所 〒173-0025 東京都板橋区熊野町 13-11

株式会社 双文社印刷

発 行 所 〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

公益社団法人 日 本 分 析 化 学 会

電 話 総務・会員・会計: 03-3490-3351

編集: 03-3490-3537

FAX: 03-3490-3572 振替口座: 00110-8-180512

© 2025, The Japan Society for Analytical Chemistry

購読料は会費に含まれています。

第46回分析化学における 不確かさ研修プログラム —受講者募集—

主催 日本電気計器検定所、(公社)日本分析化学会
測定結果の信頼性の指標としての不確かさの評価がますます重要となってきています。日本分析化学会においてもエキスパートワークショップやセミナー等によりその普及と教育に努めてきました。

また、日本電気計器検定所(JEMIC)は、「計量標準等トレーサビリティ導入に関する標準化調査研究委員会」と「計測標準フォーラム人材育成WG」が共同で開発した不確かさ研修プログラムにより不確かさの研修を実施してきました。

日本電気計器検定所と日本分析化学会は、これらの不確かさ研修を参考に2006年、「楽しく・簡単に・解かり易く」をテーマとして、不確かさの計算が分かりやすく理解できるよう演習を多く取り入れた「分析化学における不確かさ研修プログラム」(2日間コース)を開発しました。

この研修では、

- ・受講者1人1人が理解することを最優先に考えたセミナー
- ・“楽しく簡単に解かり易く”不確かさの計算方法を解説
- ・多くの演習問題を解くことで講義内容を十分理解できる
- ・複数の講師が演習問題を通して、各受講者の理解のお手伝いをする、

ことを特徴としています。講師が一方向的説明や講義を行うのではなく、受講者の理解度を確認しながら対話方式で進めていきます。

本セミナーはハイブリッド型で開催しますので、オンライン参加も可能です。遠方のお客様もお気軽にご参加ください。

ハイブリッド型の詳細は、日本電気計器検定所のホームページをご覧ください。

https://www.jemic.go.jp/gizyutu/j_keisoku.html

期日 2026年3月5日(木)・6日(金)

会場 日本電気計器検定所本社〔東京都港区芝浦4-15-7、電話：03-3451-1205、交通：JR「田町」駅芝浦口(東口)から徒歩約13分または都営浅草線・都営三田線「三田」駅A4(JR田町駅方面)出口から徒歩約15分〕

https://www.jemic.go.jp/kihon/m_honsha.html

対象者 不確かさの計算方法を初歩から学びたい方・不確かさの計算方法を社内教育等の参考にしたい方

講義内容

第1日(9.30~16.30)

1. イントロダクション
2. 演習：温度の測定
3. 不確かさとは何か？(不確かさの概要や必要性など)
4. 用語について1(JIS K 0211:2013 分析化学用語(基礎部門)の説明)
5. 不確かさ評価の概要(タイプAとタイプBの不確かさの違いなど)
6. タイプAの不確かさ評価(タイプAの標準不確かさの求め方)
7. 演習：タイプAの不確かさ評価(タイプAの標準不確かさを求める演習)
8. 確率分布について1(タイプBの評価に用いられるさまざまな確率分布について)
9. タイプBの不確かさ評価(タイプBとしてどのような不確かさの要因があるかと具体的な数値化の説明)
10. 演習：タイプBの不確かさの要因(タイプBの要因

を考察するグループ演習)

11. 確率分布について2(確率分布に応じた除数の説明)
12. 用語について2(不確かさの評価/計算に必要な用語の説明)

第2日(9.30~16.30)

《初日のおさらい》

13. 不確かさの合成と拡張(タイプAの標準不確かさとタイプBとして評価した不確かさの合成とその拡張の説明)
14. 演習：不確かさの合成と拡張(合成標準不確かさと拡張不確かさを求める演習)
15. 実際の不確かさ評価の事例紹介(水道水中のナトリウムの測定)
16. 演習：間違い探し
17. 総合演習：拡張不確かさまでの計算
18. 不確かさの利用について(ILACの示す不確かさを考慮した適合性表明の指針の説明と実際に適合性表明に不確かさを用いている例と技能試験の紹介)
19. 確認テスト

募集定員 24名(定員に達し次第、締め切ります)

参加方法 会場参加またはオンライン参加のいずれかを選択できます。

申込締切 2026年2月26日(木)

受講料 会員64,900円(日本分析化学会会員、JEMIC計測サークル会員)、会員外75,900円

※テキスト代、消費税を含みます。

受講証明書の発行 受講者には「分析化学における不確かさ研修プログラム」を受講し、講習を受けたことの受講証明書を主催団体から発行します。

合格証明書の発行 確認テスト合格者には、日本電気計器検定所から合格証明書を発行します。

申込方法 次のいずれかの方法でお申し込みください。なお、電話での申込は受け付けません。

1. 日本電気計器検定所のホームページ(https://www.jemic.go.jp/gizyutu/j_keisoku.html)の「申込みフォーム」に必要事項を入力してください。
2. 日本電気計器検定所のホームページ(https://www.jemic.go.jp/gizyutu/j_keisoku.html)から「分析化学における不確かさ研修プログラム」用の受講申込書をダウンロードし、必要事項を入力の上、E-mailに添付してお申し込みください。

送金方法 受講申込みをいただきますと、日本電気計器検定所から受講票と請求書をお送りしますので、指定口座に受講料をお振込みください。振込手数料は貴方でご負担ください。なお、受講料の返金はいたしませんので、あらかじめご了承ください。

個人情報 本セミナーの受講申込みにより取得したお客様の個人情報は、本セミナーに係る連絡に利用するほか、次の目的のために利用することがあります。なお、お客様のお申出により、これらの取扱いを中止させることができます。①JEMIC計測技術セミナーに関するお知らせ、②各種校正試験業務、検定業務、基準器検査業務等に関するお知らせ、③定期刊行物の発送、購読期限および会員の集いに関するお知らせ

喫煙に関するお願い 日本電気計器検定所では、健康増進法「受動喫煙の防止」の趣旨に従い、全館禁煙となっておりますので、ご了承ください。

申込・問合先 〒108-0023 東京都港区芝浦4-15-7 日本電気計器検定所JEMIC計測技術セミナー事務局(担当：長谷川)〔電話：03-3451-1205、E-mail：kosyukai-tyk@jemic.go.jp〕

2025 年度イオンクロマトグラフィー 分析士（初段）試験

主催 (公社)日本分析化学会イオンクロマトグラフィー研究懇談会

イオンクロマトグラフィー分析士（以下、IC 分析士）は、(公社)日本分析化学会分析士認証委員会が認証する資格であり、IC に関する知識・技量の向上、ならびに我が国の分析界の発展に貢献することを目的としております。

IC 分析士認証試験は、2020 年からの世界的なパンデミックの影響を避けると同時に、全国の IC ユーザーが受験できるように、リモート方式での実施となります。リモート試験への移行にあたりカンニングの可能性を危惧される声もありましたが、リモート試験の専門業者にご協力いただき、その課題も解消しております。また、リモート試験を採用するにあたり、全国の受験希望者を受け入れることができるメリットもありますので、今後も継続いたします。

今回は、IC 分析士初段を実施いたします。是非チャレンジしてください。

1. 試験日

- 1-1. 日時：2026 年 1 月 26 日（月）午後 2 時～午後 3 時 30 分（90 分）
- 1-2. 試験方式：リモートによる筆記試験（50 問、1 問つき 4 つの選択肢から一つ選択）
- 1-3. 受験資格：どなたでも受験できます
- 1-4. 受験料：9,900 円（税込）

2. 試験内容

初段では、高専・大学等の卒業程度の分析化学の基礎知識を 20 題（基礎）、イオンクロマトグラフィー（IC）を含む機器分析化学に関する専門的基礎知識を 30 題（専門）が出題されます。

基礎は、公設試や企業において水質管理項目で対象となるイオンや元素の基礎的な化学的性質の他に、高専や大学で学ぶ分析化学（pH の計算、解離定数等）や溶液化学（酸塩基、酸化還元等）に関する基礎知識を出題します。

専門は、企業や大学・研究機関等で IC を含む分析化学の実務経験が 5 年程度のものが問う内容です。専門用語、分離機構、カラムと溶離液の関係、サプレッサの基礎の他に、イオン排除作用、ポストカラム誘導体化法、種々な検出器（電気伝導度、紫外可視吸光度計、ICP-MS 等）、河川水や工場排水等の一般的な水質検査に用いられる試料前処理等を出題します。

3. 試験方法

本試験は、リモート方式をとることになりました。本システムでは、2 つのカメラと 7 つの AI 検出で不正を見逃さないことを特徴といたします。受験者の皆様には初めての試みで不安な点などあると思いますが、何卒ご理解いただけますと幸いです。

リモート web テストの受験に関する詳細は、IC 研究懇談会 HP の IC 分析士のページにあります動画をご覧ください。

4. 申込方法：オンライン（Microsoft forms）

- 4-1. 申込手順：イオンクロマトグラフィー研究懇談会（IC 研究懇談会）のホームページ（<https://www.jsac.or.jp/~ic/>）に入ってください、トップページの「IC 分析士（初段）2025 年度実施分受験申込（QR コード）」をクリックしてください。これより、申込フォームに入ることができます。必要事項をご記入のうえ、送信ボタンを押していただきますと完了し、電子メールで申込の完了が通知されます。なお、申込フォームからデータ送信ができない、または申込が完了しているのにメールに通知が来ない場合は、IC 研究懇談会事務局（ic@jsac.jp）へお問合せください。
- 4-2. 受験料：本試験の受験料は試験の実施に係る費用に加

え、分析士の登録料を含めて 9,900 円（税込）となっております。

- 4-3. 受験料支払方法：申込フォームで選択された受験料振込先に 2025 年 12 月 31 日までに振込をお願いいたします。領収書が必要な場合は IC 研究懇談会事務局（ic@jsac.jp）にお問い合わせください。

- 4-4. 受験申込期日：2025 年 12 月 31 日（水）午後 5 時

5. リモート試験の受験準備並びに試験中のトラブル Q & A

受験者様へお送りする案内をご参照ください。

オンライン受験 お試し用ページ

https://sikaku-uketuke.jp/portal/jsac_IC/kj_users/login

ユーザー ID：ICTest

PW：ICTest

操作体験のご案内

ログイン後、ページ右下にある「Web テスト受験方法」ボタンを押してください。

ページの移動後、受験方法の内容に沿ってご準備をすすめていただき、操作体験を行ってください。

問合せ先 〒780-8520 高知県高知市曙町 2-5-1 高知大学理工学部 イオンクロマトグラフィー研究懇談会事務局 森勝伸・森みかる〔電話：088-844-8306、E-mail：ic@jsac.jp〕

—以下の各件は本会が共催・協賛・
後援等をする行事です—

◎詳細は主催者のホームページ等でご確認ください。

第 80 回表面科学基礎講座
「表面・界面分析の基礎と応用」

主催 日本表面真空学会
期日 2025 年 11 月 1 日 (土)～30 日 (日)
会場 オンライン
ホームページ
<https://www.jvss.jp/ja/activities/04/detail/00025.html>
連絡先 〒113-0033 東京都文京区本郷 5-25-16 石川ビル
5 階 (公社)日本表面真空学会 事務局〔電話：03-3812-0266, E-mail: office@jvss.jp〕

第 54 回電気化学講習会
現場で効く電気化学の基礎
～基礎理論から計測・解析の実務まで～

主催 電気化学会関西支部
期日 2025 年 11 月 12 日 (水)・13 日 (木)
会場 キャンパスプラザ京都 第 1 講義室
ホームページ
<https://kansai.electrochem.jp/>
連絡先 〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3 同志
社大学理工学部 機能分子・生命化学科 電気化学研究室内
土井, 今中〔電話：0774-65-6580, E-mail: ecsj_kansai@
electrochem.jp〕

日本金属学会オンライン教育講座
「凝固の科学」

主催 (公社)日本金属学会
期日 2025 年 11 月 13 日 (木)・14 日 (金)
会場 オンライン (Zoom)
ホームページ
<https://www.jim.or.jp/seminersymposium/>
連絡先 〒980-8544 宮城県仙台市青葉区一番町 1-14-32
(公社)日本金属学会 セミナー・シンポジウム参加係
〔電話：022-223-3685, E-mail: meeting@jim.jp〕

第 16 回社会人のための
表面科学ベーシック講座

主催 日本表面真空学会
期日 2025 年 12 月 1 日 (月)～2026 年 1 月 11 日 (日)
会場 オンライン (Google Classroom)
ホームページ
<https://www.jvss.jp/ja/activities/04/detail/00026.html>
連絡先 〒113-0033 東京都文京区本郷 5-25-16 石川ビル
5 階 (公社)日本表面真空学会事務局
〔電話：03-3812-0266, E-mail: office@jvss.jp〕

実用表面分析セミナー 2025

主催 (公社)日本表面真空学会関西支部
期日 2025 年 12 月 3 日 (水)
会場 神戸大学百年記念館六甲ホール
ホームページ
https://www.jvss.jp/chapter/kansai/kansai_jitsuyou26/
連絡先 〒660-0891 兵庫県尼崎市扶桑町 1-8 日鉄テクノ
ロジー(株) (公社)日本表面真空学会関西支部 幹事 久保田
直義〔電話：070-1303-2401, E-mail: kubota.naoyoshi.g3y@
nstec.nipponsteel.com〕

第 12 回分散凝集科学技術講座
分散・凝集のすべて

—希薄系から濃厚系までのあらゆる分散・凝集現象に
関わる研究者・技術者のための
最新理論とテクニック—

主催 (公社)日本化学会コロイドおよび界面化学部会
期日 2025 年 12 月 16 日 (火)・17 日 (水)
会場 オンライン (Zoom Webinar)
ホームページ
<https://colloid.csj.jp/202508/2025pt/>
連絡先 (公社)日本化学会コロイドおよび界面化学部会事務局
「第 12 回分散凝集科学技術講座」事務局
〔E-mail: jigyoukikaku_03@colloid.csj.jp〕

「分析化学」年間特集“波”論文募集

「分析化学」編集委員会

「分析化学」は、2026 年のテーマを「波」と決定しました。
「波」は光の波長と波数を想起させることから、分光分析の
基礎および応用についての論文を募集します。
一方で、「波」は直接、海や川の表面に起こる波を連想させ
ます。本特集においては、海洋や河川の表層または岸辺を対象
とした環境分析についても論文を募集します。
多くの皆様方からの投稿をお待ちしております。是非この機
会をご活用ください。詳細はホームページをご確認ください。
特集論文原稿締切：2025 年 11 月 14 日 (金) (第 2 期)

「分析化学」編集委員会特集
“分析化学の次世代を担う若手研究者”の論文募集

「分析化学」編集委員会

2026 年度 (第 75 巻) の「編集委員会特集」のテーマは、日
本分析化学会の若手組織である「若手交流会」とのコラボレー
ション企画として、『分析化学の次世代を担う若手研究者』に
決定いたしました。分析化学における若手研究者のアクティビ
ティを示すことを目的として、おおむね 45 歳以下の若手研究
者・技術者を筆頭著者とする論文を募集いたします。チャレン
ジングな研究論文、ご自身の研究業績をとりまとめて体系化し
た総合論文、ある分野の研究動向を総合的・体系的に論じた分
析化学総説など、多数の論文の投稿をお待ちしております。詳
細はホームページをご確認ください。
特集論文申込締切：2025 年 10 月 4 日 (金)
特集論文原稿締切：2025 年 12 月 6 日 (金)

「分析化学」特集 “未来を拓く熱分析”の論文募集

「分析化学」編集委員会

「分析化学」編集委員会は、熱分析研究懇談会と共同で「未来を拓く熱分析」と題した特集を企画しました。熱分析は、“物質の温度を調節されたプログラムに従って変化させながら、その物質の物理的性質を温度（または時間）の関数として測定する一連の技法の総称です。適用範囲は、プラスチック、ゴム、セラミックス、金属、鉱物といった材料分野から、食品、製薬などの製品分野、生体・環境・エネルギー分野と多岐にわたり、およそあらゆる物質を対象としています。対象も手法も日々進化しています。本特集号では、広く熱分析が力を発揮した研究論文の投稿をお待ちしています。奮ってご投稿ください。詳細はホームページをご確認ください。

特集論文申込締切：2026年2月20日（金）

特集論文原稿締切：2026年4月17日（金）

初めて書く論文は母語の日本語で！ “第25回初執筆論文特集”募集のお知らせ

「分析化学」編集委員会

「分析化学」編集委員会は、2026年（第75巻）に第25回「初執筆論文特集」を企画し、下記要領で論文を募集します。卒研究生、修士・博士課程院生並びに若手研究者の方々にとって、ご自分の研究成果を日本語で投稿できるよい機会です。なお、2025年より本特集名を「若手初論文特集」から「初執筆論文特集」と変更しました。年間を通して論文原稿を受け付け、審査を経て掲載可になり次第随時掲載いたしますので、奮ってご投稿ください。

2004年の第53巻分から、優れた初論文の筆頭著者に対し、“「分析化学」若手初論文賞”を贈呈しております。2024年の栄えある受賞者については、「ぶんせき」誌2025年第4号（105ページ）をご覧ください。本初論文賞は今回も贈呈の予定です。

「分析化学」誌では、“報文”、“技術論文”、“ノート”、“アナリティカルレポート”などの各論文種目をもうけ、研究内容に応じて掲載できる体制を整えています。また「研究者の初論文」であることを考慮して、編集委員会でもできる限り支援致します。

学術的審査を経て、伝統と歴史ある「分析化学」誌に掲載された論文は、著者にとって一生の宝であり、財産であります。このような学術論文は、人類の知的資産として永遠に受け継がれ、学術、社会の発展に大きく貢献します。額に汗して得た研究成果は、埋もれさせることなく広く公開されることにより、人類の役に立ち社会に還元されます。

自分のアイデア、研究成果を自由に表現できる母語の日本語で、初めての学術論文執筆にチャレンジしてください。先生や先輩に指導をいただいて、論文作成法を習得する良いチャンスにもなります。これは大変貴重な経験であり、次の新たなステップにつながることでしょう。このチャンスは一度しかありません。多数の方々からのご投稿をお待ちしております。

記

1. 特集の題目：第25回初執筆論文特集

2. 応募資格：筆頭著者としての初めての投稿論文であること。もちろん、投稿は卒研究生、修士・博士課程院生に限らず、企業等の方々の投稿も大歓迎です。共著者にベテランの方が加わるのも一向に差し支えありません。なお、他の特集と兼ねることも可能です。他の特集と兼用の際は、投稿カードの特集名は兼用する他の特集名を選択し、「申告書」欄に「初執筆論文特集兼用」とご記入ください。兼用され

ない場合は、投稿カードの特集名は「初執筆論文」を選択してください。

3. 論文の種類：報文、技術論文、ノート、アナリティカルレポート。

4. 審査方法：一般論文の審査方法に準拠。

5. 投稿方法：「投稿規定」(<https://www.jsac.or.jp/~wabnsk/kitei.html>)、投稿要領(<https://www.jsac.or.jp/~wabnsk/youryou.html>)を参照し、論文投稿フォーム(<https://www.jsac.or.jp/~wabnsk/toko.html>)よりご投稿ください。

6. 2026年「分析化学」若手初論文賞の対象：2026年（75巻）1号～12号掲載の「初執筆論文特集」論文の筆頭著者。

7. 特集論文に関する問い合わせ先：〒141-0031 東京都品川区西五反田1-26-2 五反田サンハイツ304号（公社）日本分析化学会「分析化学」編集委員会（電話：03-3490-3537、E-mail：bunkatoukou@jsac.or.jp、URL = <https://www.jsac.or.jp/~wabnsk/>）

「お知らせ」欄原稿について

支部並びに研究懇談会の役員の皆様：掲載用の原稿ファイルをどうぞ電子メールでお送りください。送り先はshomu@jsac.or.jpです。原稿の長さに制限はありませんが原稿締切日は掲載月の前々月25日（例：1月号掲載→11月25日締切）となっておりますのでご注意ください。

本会外から掲載をご希望の場合は以下をご参照ください。

- 1) 掲載できるものは本会が共催、協賛、後援するものに限られます。
- 2) 国際会議につきましては共催、協賛、後援申請に関する規程並びにフォームがありますので、ホームページをご覧ください。本会事務局長宛にお問い合わせください。
- 3) 国際会議以外の講演会等に関しましては、会名、会場、主催団体名、同代表者名、開始期日、終了期日、連絡先並びに同電子メールを記載のうえ、書面でお申し出ください。
- 4) 掲載原稿の作成要領に関しましては承諾をご返事する際にお知らせします。
- 5) 本会支部または研究懇談会が共催、協賛、後援を承諾した事業につきましては、その旨をメールにお書きいただき、原稿ファイルをshomu@jsac.or.jpにお送りください。

国際会議以外の共催、協賛、後援に関する規程抜粋（共催）

8. 討論会、講演会等の共催とは、その討論会、講演会等の開催について、本会は主体性を持たず、会誌等を通じて広報活動等の援助を行う場合をいう。
9. 本会が討論会、講演会等を共催する場合は、その討論会、講演会等の主要議題が本会の専門分野と関連を持ち、本会正会員が会議の準備、運営等の委員に若干名加わることを条件とする。
10. 本会が共催する討論会、講演会等に対しては、他学協会長等の申し出によって会誌等による広報活動の援助を行う。特に理事会の承認を得て分担金を支出することがある。（後援又は協賛）
11. 討論会、講演会等の後援又は協賛とは、本会がその討論会、講演会等の開催に賛同し、後援又は協賛団体の一つとして、本会名義の使用を認める場合をいう。
12. 本会が討論会、講演会等を後援又は協賛する場合は、その討論会又は講演会が分析化学に関連を持ち、その開催が本会会員にとっても有意義であることを条件とする。
13. 本会が後援又は協賛する討論会、講演会等に対しては、希望に応じ会誌等による広報活動の援助を行うことがある。

【ア行】

(株)アメナテック…………… A8
(株)エス・ティ・ジャパン…………… 表紙 2

【サ行】

(株)島津製作所…………… 表紙 3
西進商事(株)…………… カレンダー裏
(株)ゼネラルサイエンス
コーポレーション…………… A3

【ナ行】

日本電気計器検定所…………… 表紙 4
日本分光(株)…………… A1
日本分析工業(株)…………… A10

【ハ行】

ビー・エー・エス(株)…………… A9
フリッチュ・ジャパン(株)…………… A5
フロンティア・ラボ(株)…………… A2

【ヤ行】

安井器械(株)…………… A4
製品紹介ガイド…………… A6~7

分析試料の前処理作成用粉碎機

FRITSCH GERMANY



ドイツ フリッチュ社製

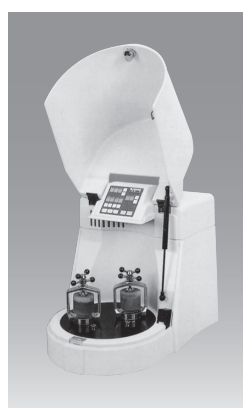
ミニミル P-23



- ナノ粒子を1-2分で作成
- 処理量0.1-5mlの少量試料作製に最適
- 重量7kg、寸法20×30×30cmと極めて小型
- 容器。ボールの材質はジルコニア、ステンレス、プラスチック
- 研究室だけでなく、DCを使って外部での使用も
- 更に、グローブボックス内での使用も可能
- マイクロチューブにも対応。Max 2ml×6個

ドイツ フリッチュ社製

遊星型ボールミル
Classic Line P-7



- Fritsch 伝統の遊星型ボールミルの小型タイプ
- 容器のサイズは45ml、または12ml。2個搭載可能
- 容器、ボールの材質はメノウ、ジルコニア等7種類
- ポット回転数はMax1,600 rpmの強力パワー
- 試料作製だけでなく、本機目的の研究開発用機器としてもご使用いただけます

カタログおよび価格表は弊社にお問い合わせください

フリッチュ・ジャパン株式会社

本社 〒231-0023 横浜市中区山下町252
大阪営業所 〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-2-7
福岡営業所 〒819-0022 福岡市西区福重5-4-2

info@fritsch.co.jp <https://www.fritsch.co.jp>

Tel (045)641-8550 Fax (045)641-8364
Tel (06)6390-0520 Fax (06)6390-0521
Tel (092)707-6131 Fax (092)707-6131

原子スペクトル分析

各種水銀測定装置

日本インスツルメンツ(株)

電話075-748-6200 営業グループ

<https://www.hg-nic.co.jp>

分子スペクトル分析

FTIR用アクセサリーの輸入・製造の総合会社
市販品から特注まであらゆるニーズに対応

(株)システムズエンジニアリング

<https://www.systems-eng.co.jp/>

E-mail: info@systems-eng.co.jp

レーザー分光分析

レーザーアブレーション LIBS 装置 J200

伯東(株) システムプロダクツカンパニー

電話 03-3355-7645 E-mail: LA-LIBS@hakuto.co.jp

<https://www.process.hakuto.co.jp/product/2562/>

クロマトグラフィー

ナノカラムからセミ分取カラムまで、豊富なサイズ
逆相 HPLC 用カラム L-column シリーズ

GC 用大口径中空カラム G-column

(一財)化学物質評価研究機構 クロマト技術部

www.cerij.or.jp E-mail: chromat@ceri.jp

ムロマックミニカラム 精度の高いクロマトグラフィー

ムロマックガラスカラム イオン交換反応を可視化

室町ケミカル(株) 電話 03-3525-4792

<https://www.muro-chem.co.jp/>

電気化学分析

電位差自動滴定装置 カールフィッシャー水分計

最大5検体同時測定, FDA Par11対応, DI 対策も安心

メトロームジャパン(株) 電話 03-4571-1743

<https://www.metrohm.jp>

ポテンショスタット・ガルバノスタット

メトローム オートラボやドロップセンスの電気化学装
置なら最大16チャンネル, スクリーンプリント電極の
特注も対応メトロームジャパン(株) <https://www.metrohm.jp>

質量分析

様々な分析ニーズに応える,
質量分析計 (GC-MS, MALDI-TOFMS, LC-MS) を
使用したソリューションをご提案いたします。

日本電子(株) 電話 03-6262-3575

<https://www.jeol.co.jp/>MALDI-TOF (/TOF), 迅速微生物同定, ESI-QTOF,
FT-ICR, LC-MS/MS, GC-MS/MS, SPR

ブルカー・ジャパン(株) ダルトニクス事業部

電話 045-440-0471

E-mail: info.BDAL.JP@bruker.com

熱分析

小型反応熱量計 SuperCRC

少量で高感度・高精度な反応熱量測定を実現

最適化・スケールアップ・安全性評価

(株)東京インスツルメンツ

電話 03-3686-4711 <https://www.tokyoinst.co.jp>

分析装置・関連機器

ユニット機器型フローインジェクション分析システム
AQLA-700

測定項目やご使用環境にあわせて機器の組合せが可能

(株)アクアラボ 電話 042-548-2878

<http://www.aqualab.co.jp>XRF分析用ガラスビードの作製及びICP分析のアルカ
リ融解処理には、高周波溶融装置ビード&フューズサ
ンプラ

(株)アメナテック

<https://www.amena.co.jp>英国エレメンタルマイクロアナリシス社製 CHNOS
有機・無機・同位体微量分析用 消耗品・標準物質等アルファサイエンス(株) <http://www.alphasience.jp/>

電話 03-3814-1374 FAX 03-3814-2357

E-mail: alpha@m2.pbc.ne.jp

高性能 HPLC/GPC-FTIR インターフェースシステム
新型 LC-CollectIR

(株)エス・ティ・ジャパン

東京 03-3666-2561 大阪 06-6949-8444

<https://www.stjapan.co.jp/>

モジュール式ラマンシステム RAMAN-QE

高感度の小型ファイバ分光器, 励起用レーザ, 各種ラ
マンプローブを組み合わせたコンパクトなシステムです。

励起レーザ選択や光学系のカスタマイズもご相談ください。

オーシャンフォトニクス(株) <https://www.oceanphotonics.com>電位差自動滴定装置・カールフィッシャー水分計・密
度比重計・屈折計・粘度計・水銀測定装置・熱計測機
器・大気分析装置・水質分析装置・排ガス分析装置

京都電子工業(株) 東京支店 03-5227-3151

<https://www.kem.kyoto/>

高品質・高精度・高耐圧

NSプランジャーポンプシリーズ

日本精密科学(株) 電話 03-3964-1198

<https://nihon-exa-sci.com>赤外顕微鏡における「観る」, 「測る」, 「使う」を再構築,
顕微赤外測定に新たなイノベーションを創出します。

赤外顕微鏡 IRT-5X

日本分光(株) <https://www.jasco.co.jp>

秒速粉碎機 マルチビーズショッカー®
 ディスボ容器で岩石・樹脂・生体等の凍結粉碎も可能。
 分析感度UP, 時間短縮, 経費節減に貢献。
 安井器械(株) 商品開発部 <https://www.yasuikikai.co.jp/>

研究室用設備機器

分析用超純水のことなら何でもエルガにご相談ください
 世界第2位のラボ用超純水装置メーカー エルガラボウォーター
 ヴェオリア・ジェネッツ(株) エルガ・ラボウォーター事業部
 e-mail: jp.elga.all.groups@veolia.com
<https://www.elgalabwater.com>

ラボ用超純水装置は「オルガノ ラボサロン」で検索
 世界トップレベルの分析と導入後のサポート体制を強
 みとする日本の水処理エンジニアリング企業です。
 オルガノ(株) <https://puric.organo.co.jp/>

グローブボックスシステム MBRAUN 社製
 有機溶媒精製装置 MBRAUN 社製
 (株)ブライト 本社 048-450-5770 大阪 072-861-0881
<https://www.bright-jp.com> E-mail: info@bright-jp.com

試薬・標準試料

認証標準物質 (CRM), HPLC・LC/MS 関連
 超高純度試薬 (Ultrapur, Primepure®)
 関東化学(株) 電話 03-6214-1090
<https://www.kanto.co.jp>

研究・産業用の金属/合金/ポリマー/ガラス等 8 万点
 取扱サプライヤー
 GOODFELLOW CAMBRIDGE LTD 日本代表事務所
 電話 03-5579-9285 E-mail: info-jp@goodfellow.com
<https://www.goodfellow-japan.jp>

X線/中性子解析向けタンパク質結晶作成をあなたのラボで
 『C-Kit Ground Pro』XRD:¥50,400 (税抜), ND:¥151,200 (税抜)
 (株)コンフォーカルサイエンス 電話 03-5809-1561
<http://www.confsci.co.jp>

標準物質は当社にお任せください！
 海外 (NIST, IRMM, BAS, MBH, Brammer, Alcoa 等)
 国内 (日本分析化学会, 産総研, 日環協等)
 各種標準物質を幅広く, また, 分析関連消耗品も各種取り
 扱っております。是非, ご相談ください！
 西進商事(株) <https://www.seishin-syoji.co.jp>

RESEARCH POLYMERS
 (株)ゼネラルサイエンスコーポレーション
 電話 03-5927-8356(代) FAX 03-5927-8357
<https://www.shibayama.co.jp>
 E-mail: gsc@shibayama.co.jp

お求めの混合標準液を混合成分から検索できる！
農薬・動物用医薬品 混合標準液検索
 WEBページで「和光 農薬 検索」で検索！
 試薬でお困りの際は当社HPをご覧ください。
 富士フィルム和光純薬(株)

書籍

機械学習による分子最適化

— 数理と実装 —

梶野 洸 著 A5判 312頁 定価3,520円 (税込)

(株)オーム社 <https://www.ohmsha.co.jp>

基本分析化学 —イオン平衡から機器分析法まで—
 北条正司, 一色健司 編著

B5判 260頁 定価3,520円 (税込)

三共出版(株) 電話 03-3264-5711

<https://www.sankyosha.co.jp/>

Primary大学テキスト これだけはおさえたい化学 改訂版
 大野公一・村田滋・齊藤幸一 他著

B5判 248頁 フルカラー 定価2,530円 (税込)

大学初年次での化学を想定。高校の復習から大学に必要な知識へのテキスト。

実教出版(株) 電話03-3238-7766 <https://www.jikkyo.co.jp/>

Pyrolysis-GC/MS Data Book of Synthetic Polymers

合成高分子の熱分解 GC/MS ハンドブック

Tsuge, Ohtani, Watanabe 著 定価31,900円 (税込)

163種の合成高分子の熱分解 GC/MS, また33種の縮合系

高分子には反応熱分解 GC/MS も測定したデータ集。

(株)デジタルデータマネジメント 電話 03-5641-1771

TOF-SIMS: Surface Analysis by Mass Spectrometry

John C. Vickerman and David Briggs 著 B5・定価51,700円 (税込)

二次イオン質量分析法の装置と試料の取扱い, 二次イオン

形成のメカニズム, データ解析アプリケーション例など

(株)デジタルデータマネジメント 電話 03-5641-1771

Surface Analysis by Auger and X Ray Photoelectron Spectroscopy

David Briggs and John T. Grant 著 B5・定価51,700円 (税込)

表面分析に欠かせない AES と XPS 法の原理, 装置, 試料の扱い,

電子移動と表面感度, 数値化, イメージング, スペクトルの解釈な

ど。(SurfaceSpectra, Ltd.)

(株)デジタルデータマネジメント 電話 03-5641-1771

第3巻「永久磁石の保磁力と関連する技術課題」

徳永雅亮, 山本日登志 著

B5判・118頁, 定価: ¥2,300 + 送料

ネオジコンサル 電話 090-2204-7294

<https://hitoshiad26.sakura.ne.jp>

改訂6版 分析化学データブック

日本分析化学会編 ポケット判 260頁 定価1,980円(税込)

丸善出版(株) 電話 03-3512-3256

<https://www.maruzen-publishing.co.jp>

セミナー・試験

海外技能試験の輸入代行サービス

西進商事(株)

神戸 078-303-3810 東京 03-3459-7491

<https://www.seishin-syoji.co.jp/>

開催20年, 受講者700名超の不確かさセミナー。
 複数の講師が一人一人丁寧に指導！オンライン参加も可。

日本電気計器検定所 (JEMIC) 電話 03-3451-1205

<https://www.jemic.go.jp>

E-Mail: kosyukai-ky@jemic.go.jp

「本ガイド欄」への掲載については下記にお問合せください。

(株)明報社

電話 03-3546-1337 E-mail: info@mei-hosha.co.jp

高周波溶融装置



ビード&フューズサンブラ

高周波誘導加熱を利用した、蛍光 X 線分析用ガラスビードの作成や
ICP/AA 分析のアルカリ融解を行う試料前処理装置



オートサンブラ機能付タイプ AT-5300

【高周波誘導加熱】

電気炉とは違い、るつぼ自体が発熱するので加熱効率が良く、短時間で溶融処理ができます。また、コイルに流れる電流値を精度良くコントロールすることで、るつぼの発熱温度を微調整することができるので、試料と融剤が激しく反応して試料が飛散することを抑えることができます。

【主な特徴】

- ・ 8 種類の溶融レシピを自由に設定
加熱温度・加熱時間・るつぼの揺動回転
- ・ 色々な材質のるつぼの使用が可能
白金・ジルコニウム・ニッケル
特殊アダプタをセットするとアルミなるつぼも使用可

卓上型タイプ AT-5000



株式会社アメナテック

〒224-0003

神奈川県横浜市都筑区中川中央 2-5-13 メルヴューサガノ 401

TEL : 045-548-6049 e-mail : info@amena.co.jp <https://www.amena.co.jp>

新規会員募集中!!

日本分析化学会は、研究者・技術者が一体となって組織化された分析化学分野では世界最大級の学会です。
今後ますますハイテク化していく生活・産業活動を支えるため、本学会ではその技術力の進歩・発展に活発に貢献しております。
この度、さらに幅広く事業を拡大していくため広く会員拡充を図ることになりました。
この好機に多数特典のある本会会員への入会をお知り合いにぜひお勧め下さい。

公益社団法人 **日本分析化学会** 会員係

〒141-0031 東京都品川区西五反田1-26-2 五反田サンハイツ304号
TEL : 03-3490-3351 FAX:03-3490-3572
E-MAIL : memb@jsac.or.jp

BAS

光学式酸素モニター



FireSting O2-C 酸素モニター(4ch)

接続するセンサータイプを入れ替えることで、基本機能の光学式酸素モニタリング測定の外に光学式温度測定、および（一部機種のみ）pH測定が可能な測定装置です。

- 一台で最大4チャンネル対応。項目の組合せは自由
- 気相および液相での測定に利用できます
- 酸素濃度測定用のセンサーには通常用と低濃度用があります
- 非接触型など様々なタイプのセンサーをラインナップ

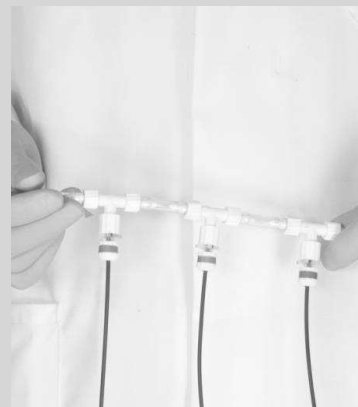
ミニプローブを
溶液に挿して...



密閉容器内の酸素濃度や
温度の測定に...



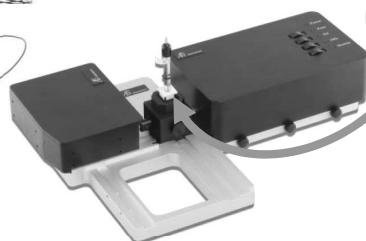
フローセルタイプで
流体の測定に...

**BAS**

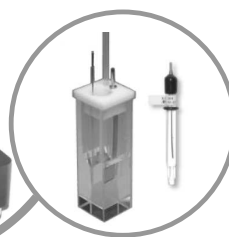
分光電気化学システム



モデル3325
バイポテンショスタット



SEC2020
スペクトロメーターシステム



SEC-CT
石英ガラス製光電気化学
セルキット+参照電極

電気化学的な挙動と
分光スペクトル変化を
同時に測定できる
システムです。

● 製品の外観、仕様は改良のため予告なく変更される場合があります。

BAS ビー・イー・エス株式会社

光学式センサーをはじめ各種のアクセサリーについては
弊社ホームページでご確認下さい!!

本社 〒131-0033 東京都墨田区向島 1-28-12
東京営業所 TEL: 03-3624-0331 FAX: 03-3624-3387
大阪営業所 TEL: 06-6308-1867 FAX: 06-6308-6890

セミナー講演内容などビー・イー・エス株式会社の最新情報はメールニュースで随時配信しております。配信ご希望の方はお気軽にお問い合わせ下さい⇒ E-mail: sp2@bas.co.jp

JAIの熱分解装置、全9種類。用途に合わせてお選びください。

全機種で試料管とニードルの交換が容易。コンタミのお悩み解消!!

Curie Point Injector JCI-77 for GC, GC/MS

インジケーター
動作状況を表示します。

スタートボタン
ワンタッチで導入が完了します。

本体
片手で持てるコンパクトサイズ。
手軽にGCへの注入が可能です。

パイロヒール
160~1040°Cの加熱温度選択。

試料管(又はmini-PAT)
試料を包んだパイロヒールを入れて、
本体にセットします。

ニードル
GCのインジェクターへ挿入して
注入します。

据え付けいらず、
GC/MSを選ばない。

熱分解-GC/MS、
VOC分析で活躍!!



JHP-10



キューリーポイントPY

JHP-10+APS-50



JHP-10
+パイロヒールサンプラー

JPI-15/07



キューリーポイントインジェクター
オートサンプラー

JHP-2200 NEW!!



熱分解・
発生ガス分析装置

JHI-08



キューリーポイントPY
+抵抗加熱PY

JHI-08+APC-50



JHI-08
+カップサンプラー

JHI-08+APS-50



JHI-08
+パイロヒールサンプラー

実機でのデモンストレーションさせていただきます。お持ちのGC/GCMSでご評価ください。
デモのご希望は下記までお願いします。なるべく早く対応させていただきます。

JAI 日本分析工業株式会社 <https://www.jai.co.jp/>

■本社・工場
■大阪営業所
■名古屋営業所

〒190-1213 東京都西多摩郡瑞穂町武蔵 208
〒532-0002 大阪市淀川区東三国 5-13-8-303
〒451-0045 名古屋市西区名駅 2-23-14 VIA141-321

TEL 042-557-2331
TEL 06-6393-8511
TEL 052-446-6696



製品情報

JAI Japan Analytical Industry Co., Ltd.

高速液体クロマトグラフ

i-Series

Integrated High Performance Liquid Chromatograph



Sustainability in Every Separation

近年、地球温暖化により世界中で様々な異常気象が発生し、各国政府は2050年までに温室効果ガスの排出を全体としてゼロにする「カーボンニュートラル」の達成を掲げています。業務効率化がより一層求められる一方で、分析業務のあるべき姿も大きく変わり始めています。脱炭素社会の実現に向けて、

Smart：多様な働き方によるやりがいと生産性の向上

Eco：環境負荷の低減

を両立するソリューションを提供します。

新しい一体型LCシステムi-Seriesは従来の卓越した性能を継承しながら、安定してご使用頂ける堅牢性と環境負荷低減に寄与する機能を備え、常に信頼性の高い分析結果を提供します。

intelligent

診断・予防・復旧の3機能が分析の堅牢性の維持をサポートし
データ信頼性の向上と分析業務効率化の両方を実現



innovative

装置の遠隔操作・モニタリングによりラボ外からでも
分析業務を実施し、ラボ滞在時間を短縮

intuitive

直感的な操作とメンテナンス性、卓越した装置性能で
常に安定した分析を提供



Analytical Intelligenceは、島津製作所が提案する分析機器の新しい概念です。システムやソフトウェアが、熟練者と同じように操作を行い、状態・結果の良し悪しを自動で判断し、ユーザーへのフィードバックやトラブルの解決を行います。また、分析機器に対する知識や経験の差を補完し、データの信頼性を確保します。



詳しい製品情報はこちら

計測技術セミナー

(公社)日本分析化学会と共催

分析化学における不確かさ研修プログラム

楽しく！ 簡単に！ わかりやすく！

オンライン参加もOK！

受講者全員に目が届く
少数定員

講義と演習を
繰り返すので
確実に身に着く！

確認テストを行い
合格証明書を発行！
能力評価にも
利用できる！

未経験者でも
簡単に不確かさの計算が
できるようになる

複数の講師が対応

受講者全員に
受講証明書を発行

質問
しやすい！

受講者一人一人の
理解度を確認しながら
進めるので安心！

社員教育として
活用できる！

難しい数式や
偏微分は
使いません！

その他、JEMICで開催しているセミナー

「知っておきたい不確かさの評価法 応用編」
「不確かさ評価に必要な統計的手法」
「事例で学ぶ不確かさ：電気編」
「事例で学ぶ不確かさ：温度編」
「ISO/IEC 17025:2017内部監査員研修」

「ISO/JIS Q 10012計測器管理規格の解説と活用」
「質量計の校正と不確かさ評価」
「一次元寸法測定器の校正と不確かさ評価」
「温度測定の基礎」 「抵抗温度計の校正」
「熱電対の校正」 「放射温度計基礎講座」など



問い合わせ先

日本電気計器検定所 (JEMIC) セミナー事務局

〒108-0023 東京都港区芝浦4-15-7

TEL: 03-3451-1205 / E-Mail: kosyukai-tyk@jemic.go.jp

セミナー詳細はこちら https://www.jemic.go.jp/gizyutu/j_keisoku.html



標準器・計測器の校正試験については下記へお問い合わせください

日本電気計器検定所

<https://www.jemic.go.jp/> JEMIC

- JEMIC は、電気、磁気、温湿度、光、時間、長さ、質量、圧力、トルク、力のJCSS校正を行っています。
- JEMIC が発行する国際MRA対応JCSS認定シンボル付き校正証明書は、品質システムの国際規格ISO 9000S、自動車業界の国際的な品質マネジメントシステム規格IATF 16949の要求に対応できます。

校正試験実施・窓口

- 本社
〒108-0023 東京都港区芝浦4-15-7
Tel.03-3451-6760 Fax.03-3451-6910
- 中部支社
〒487-0014 愛知県春日井市気喰町3-5-7
Tel.0568-53-6336 Fax.0568-53-6337
- 関西支社
〒531-0077 大阪市北区大淀北1-6-110
Tel.06-6451-2356 Fax.06-6451-2360
- 九州支社
〒815-0032 福岡市南区塩原2-1-40
Tel.092-541-3033 Fax.092-541-3036

JEMICのネットワーク・代表電話

- 本社
03-3451-1181
- 北海道支社
011-668-2437
- 東北支社
022-786-5031
- 中部支社
0568-53-6331
- 北陸支社
076-248-1257
- 関西支社
06-6451-2355
- 関西支社京都事業所
075-681-1701
- 中国支社
082-503-1251
- 四国支社
0877-33-4040
- 九州支社
092-541-3031
- 沖縄支社
098-934-1491

お客様のニーズに応えるネットワークと、
永年にわたる研究を基盤とする実績。
校正試験のことなら、
JEMICにご相談ください。



JEMICイメージキャラクター
「ミクちゃん」