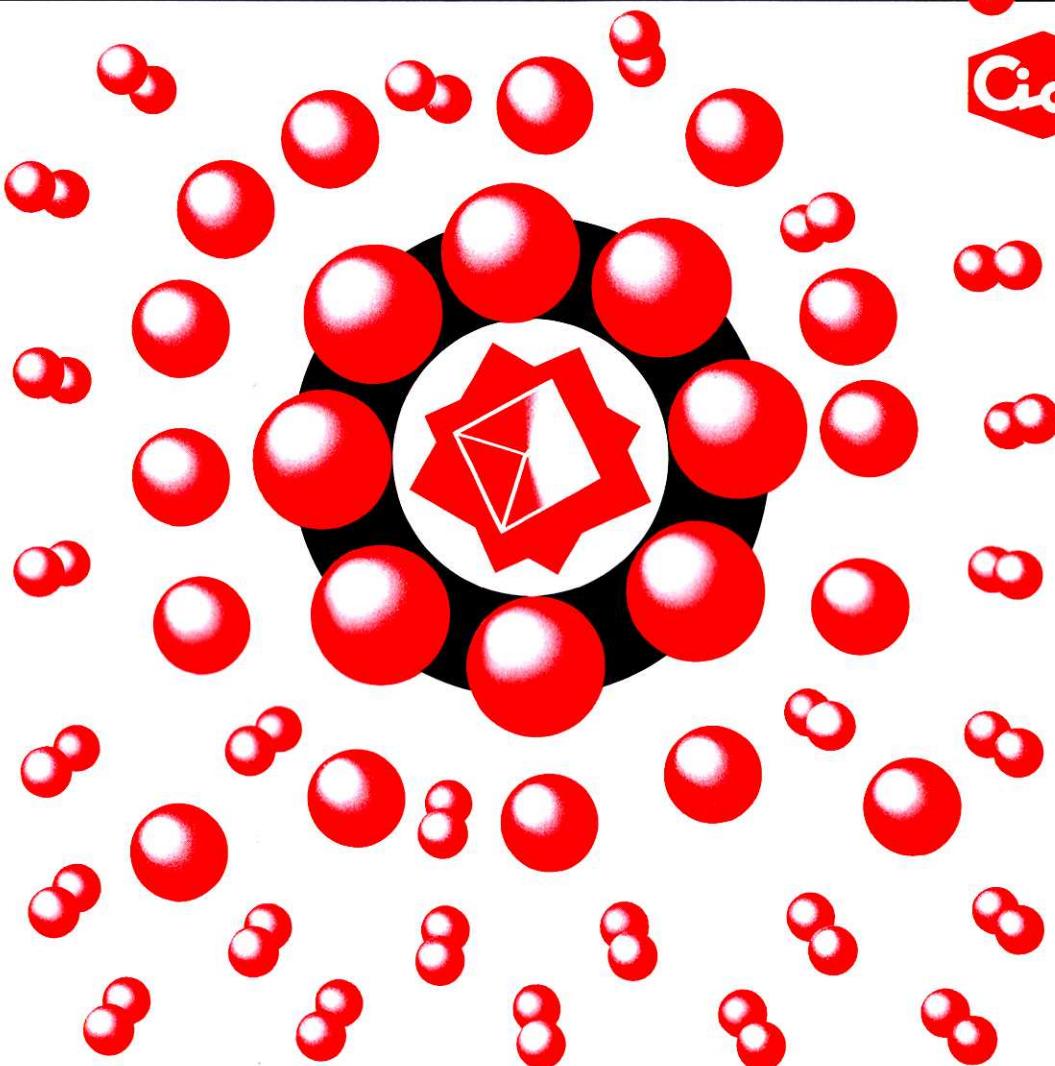


THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446
KANTO CHEMICAL CO., INC.
1996 No.3 (通巻161号)



目 次

薄層クロマトグラフーの分離度及び Rf 値に影響を及ぼす基本的実験条件について	刃 刀 彰	2
一実験例を中心にして	田部井 克己	
臨床化学並びに臨床化学検査への接近	佐々木 権一	10
16. 脂質検査(リン脂質、遊離脂肪酸、リポタン白およびHDL-cholesterol)		
宇宙の彼方に生命を求めて	小池 慎平	19
その5. 太陽系唯一の地球型惑星である火星の生命探査		
編集後記		24

薄層クロマトグラフィーの分離度及び Rf 値に 影響を及ぼす基本的実験条件について

— 実験例を中心にして —

東京薬科大学 生命科学部教授 薬学博士 劍 刀 彰

東京薬科大学 薬学部助教授 薬学博士 田部井 克己

1. はじめに

薄層クロマトグラフィー (TLC) は分析化学、有機化学、天然物化学、生化学、衛生化学等の広い分野で定性分析、確認試験、反応の追跡、生成物の精製或いは定量分析法として普及しており、例えば日本薬局方や衛生試験法等の公定書にも有力かつ簡便な試験法として収載されている。装置、例えば TLC プレートについても現在各メーカーから多種多様の製品が市販されている。翻って著者等が大学を卒業した 35~40 年前は未だ TLC の黎明期で、TLC 板は自分で作るもので、それ用のシリカゲル粉末やアプリケーターが市販されていた。将に隔世の感がある。何れにせよ、ハードとソフトの両面が発達した TLC は薬科大学では有機化学、衛生化学、生化学、生薬学等の実習における必修項目の一つとなっている。

TLC にも液体クロマトグラフィーと同様にシリカゲルの微細粉末を固定相とし有機溶媒を移動相とする順相系と、ODS-シリカゲル等の微細粉末を固定相とし水を含む極性溶媒を移動相とする逆相系があることはよく知られている。有機化学や天然物化学の分野では、対象化合物が親油性のものが多いことから順相系 TLC が汎用されているが、糖類やアミノ酸、ペプチドやタンパク質など、対象化合物が親水性のものを扱う生化学や衛生化学、薬物学或いは医薬品分析の分野では主として逆相系 TLC が使用されている。

TLC の分離度或いは Rf 値に影響を及ぼす因子は数多く、例えば F. Geiss は固定相の選択、粒子径、移動相の最適化、展開槽の形状等 25 項目を挙げている。¹⁾しかし、個々の実験条件が分離度や Rf 値にどのような影響を及ぼすか、初学者むきの具体的な実験例を掲げた成書はない。一方、薬科大学の実習現場でクロマトグラフィーの基礎を教えている立場では、TLC が操作性や経済性に優れ簡単であるが故に、ややもすると実験が雑になり、実験条件の設定や性能の限界を軽視するために信頼性や再現性

に問題があると感じていた。そこで、我々は TLC において、展開槽へのろ紙挿入、溶媒の飽和、前吸着、温度、展開距離等の基本的実験条件が分離度や Rf 値に及ぼす影響を観察、理解させるための題材を検討し、日本化学会の「化学と教育」誌に発表してきた。^{2,3)}今回、本誌編集委員の薦めで、それらをまとめて紹介させて戴くこととした。

なお、本報の殆どの実験で、順相系固定相にはキーゼルゲル 60 F₂₅₄、逆相系には同 RP-18 F_{254s} TLC 板 (10 cm × 10 cm) を用い、温度を変える実験以外は 20 ± 1 °C の恒温槽 (サンヨーインキュベーター MIR-151) で行った。クロマトグラムの作図、保存及び Rf 値の計算には薄層クロマトスキャナー (島津 CS-9000) を用いた。また、展開槽は特注の展開槽 (図 1) を、試料溶液のスポットには 1 ~ 5 μ l マイクロピッペット (ドルモンドサイエンティック社) を用いた。

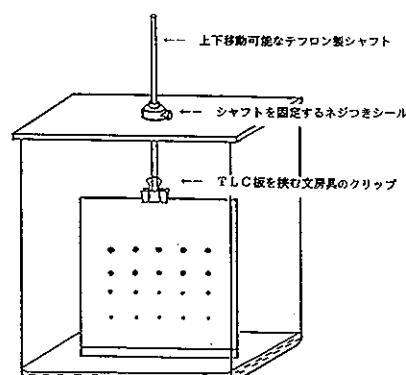


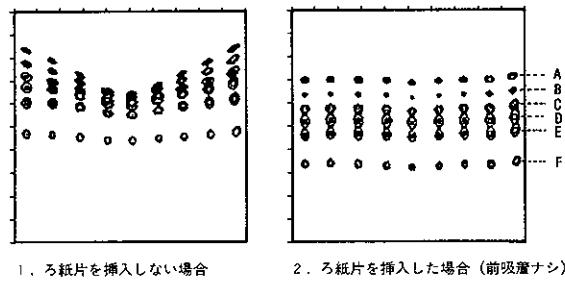
図 1. 特注の展開槽

2. 展開槽へのろ紙片の挿入と溶媒飽和の効果

TLC の実験書には、展開槽内にろ紙片を挿入して溶媒を浸み込ませ、槽内に移動相の蒸気を均一に飽和させる必要があり、これをしないと周縁現象が起こると記載されている。^{5,6)} まず順相系 TLC の周縁現象を観察する例として、市販の風邪薬有効成分を試料とし、水飽和ジクロロメタン（注1）-エタノールの混合液（9 : 1）を移動相として展開した実験を示す。

ろ紙片を入れない展開槽を用いて展開すると、溶媒は乾いた TLC 板を毛細管現象で上昇するが、板の両縁部は溶媒の揮散が早く、揮発した溶媒を補充するために縁部ほど多量の溶媒が移動する。このため、溶媒前線は肉眼的にはほぼ横一線に上昇するが、実質的な上昇速度は TLC 板の両縁部側が早くなる。この周縁現象により、*Rf* 値が両端部で大きく中央部で小さくなり、懸垂状に展開される状況が観察できる。（図2-1）これを防ぐため、例えば日本薬局方では展開槽へのろ紙片の挿入と TLC 板の左右両縁から少なくとも 1 cm 離してスポットするよう規定している。

一方、ろ紙片を挿入すると展開槽内に溶媒蒸気が容易に飽和し TLC 板からの溶媒の蒸発が抑制され、揮散速度の差が少なく、このため溶媒の実質的な展開速度が TLC 板全体で概ね一定となり、周縁現象が起らざる分離度も *Rf* 値も一定となる。（図2-2）クロロホルムやジクロロメタンのような蒸気密度の大きな溶媒を用いる場合、溶媒蒸気が展開槽の底部に淀みやすいので、ろ紙片の挿入とそれによる溶媒蒸気の飽和は必須条件とも云える。



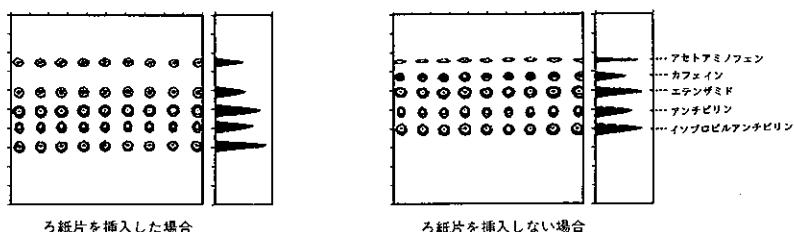
1. ろ紙片を挿入しない場合

2. ろ紙片を挿入した場合（前吸着なし）

[試料] A : イソプロピルアンチビリン B : エテンザミド C : フェナセチン
D : カフェイン E : アンチビリン F : アセトアミノフェン
[移動相] 水飽和ジクロロメタン-エタノール混合液 (9:1)

図2. 展開槽へのろ紙片の挿入と溶媒飽和の効果

逆相 TLC の場合、上記と同様の試料混合物について、水-アセトニトリル混合溶液 (40:60) を移動相として実験したが、図3に示すようにろ紙片を挿入しなくとも、また、溶媒蒸気の飽和を行わざとも周縁効果は認められなかった。しかし、ろ紙片を挿入しないと、水分含量が大きい溶媒系の移動相を用いる場合、有機溶媒の上昇する先端前線とその下部に水相の上昇する先端部が分離し、いわゆる β -フロントの形成が観察できる。このため分離度が低下し、再現性が悪くなる。なお、移動相中の水分含有量が大きいと全く展開できない市販 TLC 板、例えば Merck 社製の HPTLC 板、もあるので注意が必要である。



ろ紙片を挿入した場合

ろ紙片を挿入しない場合

図3. 逆相系 TLC におけるろ紙片の挿入効果

3. 分離度及び *Rf* 値に及ぼす前吸着の効果

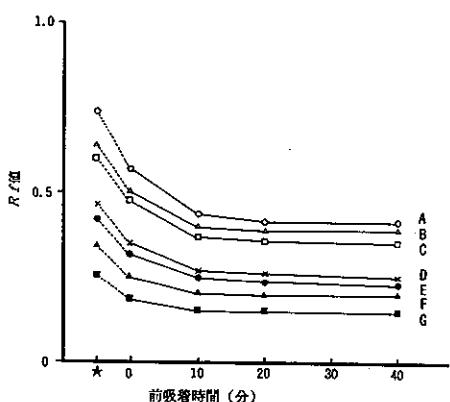
前吸着とは展開前に試料をスポットした TLC 板を溶媒液面から少し離して展開槽内に吊るし、TLC 板の表面に溶媒蒸気を吸着飽和させる操作である。前吸着を行うには特別の展開槽を用いる必要があるので、多くの場合この操作を省略する。すると TLC 板の表面が乾いているため、溶媒の上昇速度が早く、*Rf* 値が大きくなり、ク

注1. CH_2Cl_2 の瓶に水を数 mL入れ、よく振り混ぜた後、一定温度で保ち、下層を用いる。

ロマトグラムの再現性が悪くなる。まず順相系 TLC における前吸着の影響を観察する例として、試料としてアニリン、ニトロベンゼン、フェノール、サリチル酸、*p*-クレゾール、*m*-及び *p*-ニトロフェノール混合物を用い、移動相として *n*-ヘキサン-酢酸エチル-水-酢酸混合液(70:30:0.15:0.5) を用いた分離実験を示す。

すなわち、ろ紙片を挿入した展開槽に試料をスポットした TLC 板を溶媒面から約 1 cm 離して吊るし 10, 20, 30 および 40 分間前吸着させた後展開し、前吸着せずに展開した場合の *Rf* 値の変動を図 4-1 に示す。この実験では 10 分間の前吸着により *Rf* 値はほぼ一定となっている。また、ろ紙片を挿入せず、前吸着も行わずに展開した場合(図中★印で示した)、*Rf* 値が全体に大きくなることも判る。

なお、ニトロベンゼンは前吸着を 10 分間以上行うとスポットが分散して検出不能となった。これはシリカゲルに対する吸着性の弱いニトロベンゼンの場合、TLC 板の表面に吸着した溶媒中にも溶けこみ、展開と同じ状況になるためと考えられる。この現象はナフタレンや *p*-ジクロロベンゼンでも認められるので、シリカゲルに対する吸着性の弱い化合物の場合は注意を要する。一方、逆相 TLC について、風邪薬成分の混合物を試料とし、移動相として水-アセトニトリル混合液(40:60) を用いて同様の実験を行ったところ、アセトアミノフェン以外の化合物については、前吸着の時間が長くなると *Rf* 値が僅かに減少する挙動を示したが、順相系 TLC の場合ほど顕著な影響は認められなかった。(図 4-2)



【試料】A: ニトロベンゼン B: フェノール C: *p*-クレゾール
D: *m*-ニトロフェノール E: アニリン F: *p*-ニトロフェノール
G: サリチル酸

【移動相】ヘキサン-酢酸エチル-水-酢酸混合液(70:30:0.15:0.5)

図 4-1. 順相 TLC における分離度及び *Rf* 値に及ぼす前吸着の影響

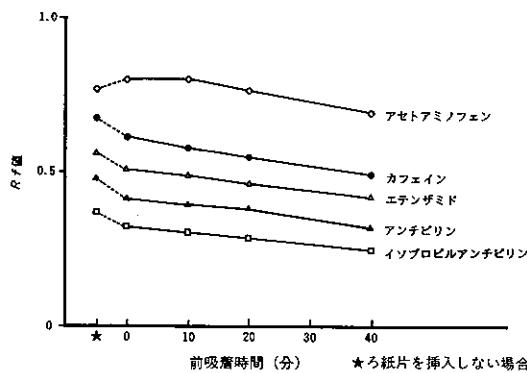


図 4-2. 逆相 TLC における分離度及び *Rf* 値に及ぼす前吸着の影響

4. 分離度及び *Rf* 値に及ぼす展開温度の影響

TLC では一般に展開温度が高くなると、*Rf* 値が小さくなり分離度が低下することが知られている。吸着クロマトグラフィーにおける移動率を決定する因子について、E. Stahl は固定相の活性度、移動相及び試料の極性の 3 者であると指摘している。⁷⁾ 即ち、固定相の活性度を高めると吸着された物質は移動し難くなり *Rf* 値は減少し、活性度を低下させると移動し易くなり *Rf* 値が増大する。一方、吸着 TLC における最も大きな活性度制御因子は水分であり、その含有量の尺度は相対湿度で表される。展開槽のような閉じた系では、温度を上げると相対湿度が下がり、固定相の活性度が上がるため吸着力が強くなり、その結果として *Rf* 値が減少する。

また、移動相の極性は誘電率という尺度で計られるが、誘電率は温度の上昇に伴って減少することが知られている。⁸⁾ そこで本実験に供したベンゼン-アセトン(4:1) 及びクロロホルム-エタノール(9:1) 両混合液の誘電率の温度変化を調べたところ、温度の上昇に伴って減少傾向を示した。(図 5) 以上のように、温度が高くなると移動相の極性が減少し、相対的に固定相への吸着が強まり *Rf* 値が減少することが判る。更に、温度の上昇により、展開溶媒の粘性が減少することにより、溶媒の移動速度が早くなり、このことも *Rf* 値を減少させる一因であると説明されている。

そこで、順相 TLC における温度の影響を観察するため、試料に TLC 板の活性度検定用及びローバーカラム検定用標準色素混合物(ともに Merck 社製)を、溶媒にトルエンを用いて、温度を 5, 10, 15, 20 及び 25°C に設定した恒温槽内で展開し、温度と *Rf* 値との関係を調べた。

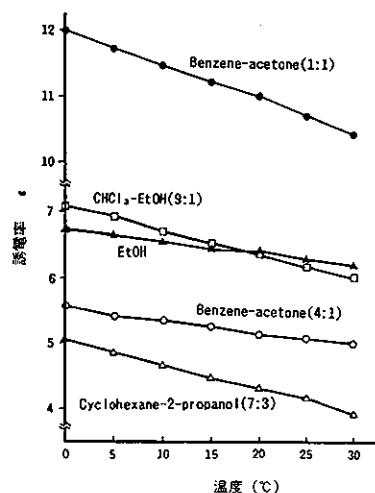
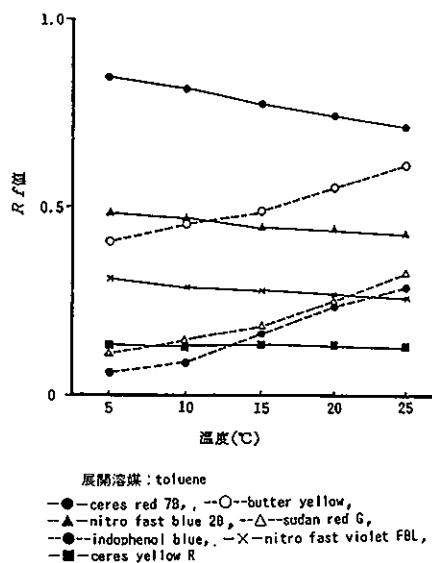


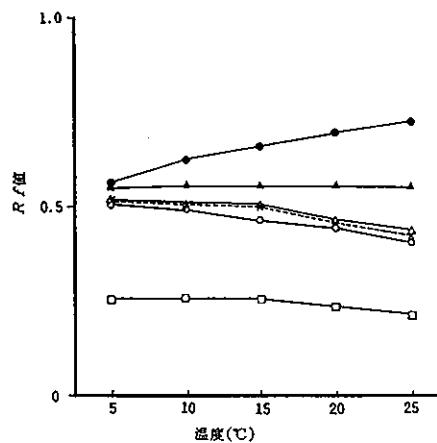
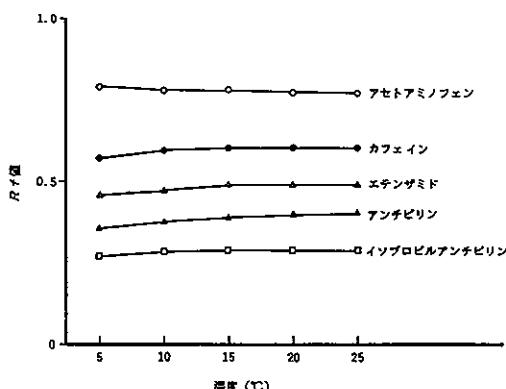
図 5 . 各種溶媒の誘電率の温度変化

その結果、図 6-1 に示すようにローバーカラム検定色素（セレスレッド 7B, ニトロファストブルー 2B, ニトロファストヴァイオレット FBL 及びセレスイエロー R）の R_f 値はいずれも展開温度の上昇に伴って減少した。しかし、TLC 検定用色素（バターアイエロー, ズダンレッド G 及びインドフェノールブルー）の挙動は異例で、これらの R_f 値は温度の上昇に伴い通常とは逆に増加した。

図 6-1 . 順相 TLC における標準色素類の R_f 値に及ぼす展開温度の影響

また、市販風邪薬成分について、クロロホルム-エタノール混合液（9:1）を用いて温度の影響を調べた結果を図 6-2 に示す。フェナセチン、カフェイン、アセトアミノフェン及びアンチピリンの R_f 値は温度の上昇に伴って減少したが、エテンザミドの R_f 値は 5~25 °C の範囲でほぼ一定 ($R_f=0.57$) であり、一方イソプロピルアンチピリンの R_f 値は温度の上昇に伴って明らかに増加の傾向を示した。

次に、アニリン、サリチル酸等の簡単な化合物とコルチゾンやプロゲステロン等のステロイド類の R_f 値に対

図 6-2 . 順相 TLC における風邪薬成分の R_f 値に及ぼす展開温度の影響図 6-3 . 逆相 TLC における風邪薬成分の R_f 値に及ぼす展開温度の影響

する展開温度の影響を2系統の展開溶媒を用いて調べた。実験に供した大部分の化合物のRf値は表1に示すように、温度の上昇に伴って減少する一般的な挙動を示した。しかし、サリチル酸とレゾルシンは移動相にベンゼン-アセトン混合液(4:1)を用いた場合にはほぼ一定値を保った。また、移動相にクロロホルム-エタノール(9:1)を用いた場合、サリチル酸のRf値は増加の傾向を示した。

一方、逆相TLCについて、風邪薬成分を試料とし、移動相に水-アセトニトリル混合液(40:60)を用いて

同様の実験を試みた結果、順相系TLCの場合ほど大きな影響は認められないものの、温度の上昇に伴って若干増大する傾向を示した。(図6-3)

以上の結果、ある種の化合物では温度の上昇に伴いそのRf値が増加するという通例とは逆の挙動を示すものがあり、また、化合物によっては移動相が変わると温度の上昇に伴うRf値の変動傾向が逆転する例もある。従って、TLCの通性として「展開温度の上昇に伴ってRf値は減少する」とは限らないことがわかる。なお、これらの異例な挙動のメカニズムは不明である。

表1. 順相系TLCにおける各種化合物のRf値に及ぼす
展開温度の影響

化合物	展開条件 温度°C	溶媒 ベンゼン-アセトン(4:1)					クロロホルム-エタノール(9:1)				
		5	10	15	20	25	5	10	15	20	25
サリチル酸		0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.23	0.25	0.26	0.29	0.30
レゾルシン		0.19	0.20	0.21	0.21	0.22	0.39	0.38	0.36	0.33	0.31
p-ニトロフェノール		0.43	0.42	0.41	0.39	0.36	0.52	0.50	0.49	0.47	0.43
アニリン		0.52	0.51	0.50	0.48	0.47	0.64	0.63	0.62	0.60	0.59
フェノール		0.55	0.53	0.52	0.50	0.49	0.59	0.57	0.56	0.55	0.53
p-クレゾール		0.56	0.55	0.54	0.53	0.51	0.57	0.56	0.54	0.53	0.49
o-ニトロフェノール		0.76	0.74	0.73	0.71	0.69	0.83	0.82	0.79	0.76	0.73
ニトロベンゼン		0.76	0.74	0.73	0.70	0.68	0.85	0.81	0.80	0.78	0.75
コルチゾール		0.11	0.10	0.08	0.05	0.05	0.26	0.25	0.22	0.19	0.17
コルチゾン		0.14	0.13	0.12	0.10	0.08	0.50	0.47	0.45	0.43	0.38
コルチコステロン		0.14	0.12	0.11	0.10	0.09	0.39	0.35	0.33	0.30	0.26
11-デオキコルチゾン		0.23	0.21	0.18	0.16	0.15	0.48	0.44	0.39	0.36	0.34
プログステロン		0.50	0.48	0.46	0.44	0.41	0.66	0.64	0.62	0.59	0.55

5. 分離度とRf値に及ぼす展開距離の影響

例えば、上述のTLC検定用標準色素混合物をシリカゲルTLC板にスポットし、トルエンを用いて展開すると、展開初期は各スポットが一斉に上昇し、やがて分離し、ある時間経過後はほとんど移動しなくなる現象が観察できる。これは容量勾配、すなわちTLC板のシリカゲル層に浸み込んだ溶媒の量が液面からの距離によって異なるために起こる現象で、このためRf値は展開距離や溶媒液面からスポットしたベースラインまでの間隔によって変動する。¹⁾そこで、順相TLCにおける分離度及びRf値に対する展開距離の影響を観察する実験を検討した。風邪薬成分を試料とし、シリカゲルTLC板と水飽和ジクロロメタン-エタノール混合液(9:1)を用いて3~8cmの距離を展開したクロマトグラムを図7-1に示す。この実験では展開距離が短いとスポットの分離が悪いが、6cm以上展開すればほぼ満足すべきクロマトグラムが得られることが判る。この長さは展開可能な距離の約70%に相当し、展開所要時間は20±1°Cで約10

分間である。なお、日本薬局方一般試験法は、20cmのTLC板を用い、10~15cmの範囲で医薬品ごとに最適の展開距離を規定し、さらに標準物質を同時に展開してRf値を補正する方法を採用している。

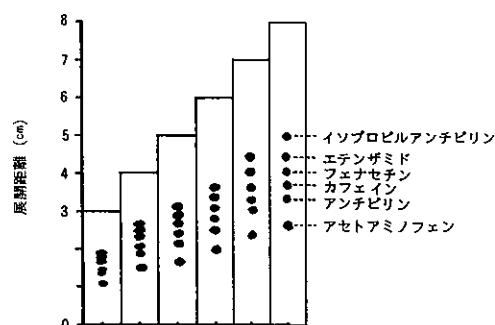


図7-1. 順相TLCにおける分離度及びRf値に及ぼす
展開距離の影響

次に、逆相系 TLC における分離度と Rf 値に及ぼす展開距離の影響を調べるために、風邪薬成分混合物と水-アセトニトリル混合液(40:60)を用い、3~8 cm 展開した。結果は順相 TLC の場合ほど著しくはないが、図 7-2 のように展開距離の増加に伴い分離度が顕著に向上升し、 Rf 値が僅かに減少した。ただし、一般に逆相 TLC では溶媒の上昇速度が順相系に比べて遅く、特に展開距離が長くなったり移動相の水分含量が大きい場合は極端に遅くなる。この実験系の場合、7 cm 展開するには約30分間を要するが、10 cm 展開するには約60分間を要した。そこで展開時間と分離度の双方を考慮すると 7 cm 程度展開すれば充分であろう。

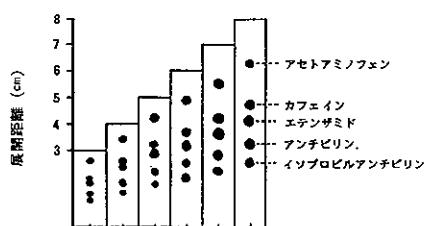


図 7-2. 逆相 TLC における分離度及び Rf 値に及ぼす展開距離の影響

6. 順相 TLC における分離度及び Rf 値に影響を及ぼす展開溶媒中の水及び酢酸の添加効果

一般に順相クロマトグラフィーにおいて移動相に微量の水を添加すると分離度を著しく改良できるが、このことに懐疑的な同学の士が多い。順相 HPLC における移動相への水及び酢酸の添加効果については既に本誌1993年第4号に紹介させて戴いたが、⁹⁾ 順相 TLC においても同様の効果があることを紹介したい。

前報の HPLC の場合と同様に、酸性、中性及び塩基性の試料としてサリチル酸、フェノール、ニトロベンゼン及びアニリンの混合物を用い、移動相に n-ヘキサン-酢酸エチル-水混合液(70:30:0.15)を用い、これに酢酸を0~5%の範囲で添加し、分離度及び Rf 値の挙動を調べた。結果は図 8 に示すように約2%の酢酸を添加した場合に最も良好なクロマトグラムが得られた。なお、ニトロベンゼン、アニリン及びフェノールの Rf 値は酢酸の添加量にほとんど影響されない。サリチル酸は移動相に水を添加しないと原点吸着であるが、水を0.15%添加することにより大きくテーリングするが展開は行われる。これに微量の酢酸を添加するとテーリングが消えてスポットはまとまり、 Rf 値は増大する。更に酢酸添加量が約3.5%に達するとサリチル酸とアニリンの Rf 値が等しく

なり、それ以上の酢酸を添加すると両者の Rf 値は逆転する。この傾向は上述の HPLC の実験結果とよく一致している。

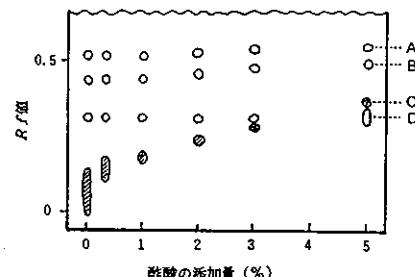


図 8. 順相 TLC における風邪薬成分の Rf 値に及ぼす移動相への水分及び酢酸の添加効果

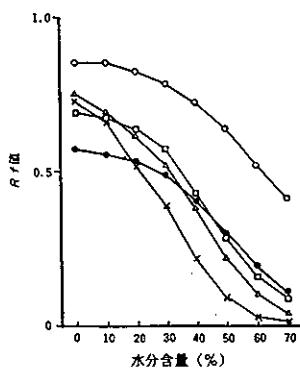
一方、逆相 TLC においては展開溶媒として色々な含水混合溶媒を用いるが、水含量は展開時間や Rf 値に大きな影響を及ぼし、一般に水分含量の増加に伴い展開時間は極端に長くなり、 Rf 値は減少することが知られている。¹⁰⁾ そこで基礎的なデータを得る目的で、試料として市販風邪薬の成分を用い、移動相として水分含量0~70%の水-メタノール混合液を用いて各化合物の Rf 値の挙動を調べた。その結果は図 9-A に示すように水分含量の増加につれて Rf 値が緩やかに減少する一般的な挙動を示した。しかし、移動相として水-アセトニトリル混合液を用いた場合、何れの化合物も図 9-B に示すように水分含量20~30%までは Rf 値が上昇し、次いで緩やかに減少する傾向を示した。このような移動相の相違により同じ化合物の Rf 値が変わった挙動を示す理由は解らない。

次に水溶性食用タル色素について同様の実験を行なった。移動相として水-メタノール混合液を用いた場合、アゾ系の赤色2号、同102号、黄色4号及び同5号の Rf 値は水分含量30%までは若干増加し、30%を超えると徐々に減少するが、他の6色素の Rf 値は風邪薬成分と同様に水分含量の増加に伴い減少する傾向を示した。(図 10-A) しかし、移動相として水-アセトニトリル混合液を用いると、キサンテン系の赤色3号、同104号、同105号の Rf 値は水分含量の増加に伴って単純に減少したが、他の7色素の Rf 値の挙動は極めて特異的であった。即ち、水を添加しないアセトニトリルを用いると全て原

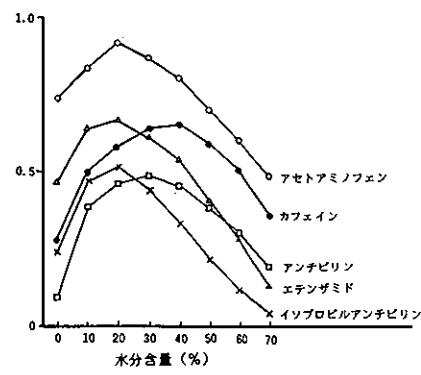
点吸着であるが、水を添加すると Rf 値は急激に増大し、水分含量30%でどの色素もほぼ溶媒前線と一緒に移動した。ところが、水分含量がこれを超えると、赤色2号、同106号、青色1号、黄色5号及び緑色3号の Rf 値は顕著に減少した。しかし、赤色2号は水分含量60%まで $Rf=1.0$ で変化なく、水分含量70%に至り僅かに減少した。一方、黄色4号の Rf 値は水分含量30~70%範囲で $Rf=1.0$ のままであった。(10-B) 水分含量の変動に伴う食用タール色素の Rf 値が示すこのような挙動的理由

は一部は化学構造との関連で説明できそうだが、詳細は不明である。

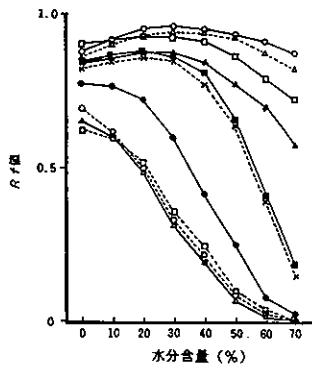
上記の実験をメタノールの代わりにエタノールを用いてもほぼ同様の結果が得られた。一方、アセトニトリルの代わりにプロピオニトリルを用いた場合、プロピオニトリルの水への溶解性が低く、均一相となる最大水分含量は約10%であり、比較の対象にならない。また、プロピオニトリルは毒性がアセトニトリルの100倍も強いため、この点でも展開溶媒として不適当であると云える。¹¹⁾



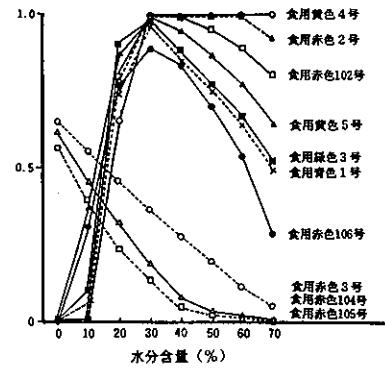
A 移動相: 水/メタノール混合液



B 移動相: 水/アセトニトリル混合液

図9. 逆相 TLC における風邪薬成分の分離度及び Rf 値に及ぼす移動相中の水分含有量の影響

A 移動相: 水/メタノール混合液



B 移動相: 水/アセトニトリル混合液

図10. 逆相 TLC における食用色素の分離度及び Rf 値に及ぼす移動相中の水分含有量の影響

7. タイプの異なる TLC 板の性能比較

固定相の選定は TLC 実験の最も重要な実験条件の一つである。例えば、メルク社製の順相用シリカゲル TLC 板にも今回実験に用いたキーゼルゲル 60 F₂₅₄ の他に同種の蛍光剤なしの製品や、HPTLC 用或いは濃縮ゾーン付き等が市販されている。そこで、TLC 板の特性と分離度や R_f 値の関係を調べてみた。

順相用のキーゼルゲル 60 F₂₅₄ とその濃縮ゾーン付き及び HPTLC 用の TLC 板の 3 者を固定相とし、移動相に水飽和ジクロロメタン／エタノール混合液 (9:1) を用い、風邪薬成分の分離実験を行った。その結果は図 11 に示すように、当然のことながら HPTLC 板が最も良い分離能を示した。濃縮ゾーン付き TLC 板を用いると特徴として濃縮ゾーンの上端で各スポットが濃縮され帶状で展開されるが、分離度は悪くない。一方、汎用 TLC 板の場合、展開距離が 5 cm 以下ではフェナセチン、カフェイン及びアンチビリンのスポットが接近して分離は不十分であるが、6 cm 以上展開すれば、分離能の差はその価格差ほど大きくなないと云える。因みに HPTLC 及び濃縮ゾーン付き TLC 板 (いずれも 10 cm × 10 cm) の価格は汎用キーゼルゲル 60 F₂₅₄ TLC 板 (20 cm × 20 cm) のそれぞれ約 4 倍と約 3 倍である。

8. おわりに

TLC は化学の広い分野で汎用される分析手段であるが、その操作性や簡便さ、経済性に目を奪われ、つい粗雑な実験に陥りやすい。ろ紙片の展開槽への挿入はまず省略しないであろうが、前吸着は特殊な展開槽を用意せねばならず、溶媒飽和も時間がかかるので展開槽を適当にゆすってよしとする場合が多い。温度設定は面倒だし、標準品と一緒に展開すれば充分としがちである。しかし、例えば同じ試料を同じ TLC 板と同じ溶媒を用いて展開しても、夏と冬では分離度や R_f 値が全然違うことを経験した読者も多いと思う。

再現性ある信頼のおけるデータを得るために基本的な実験条件を再認識して戴ければと考え、このような実験例をご紹介した。ここで扱った実験条件の意義や重要性については教科書や実験書等に全て記載されている。しかし具体的な実験データや設定を誤った場合の失敗したクロマトグラム例等についての記載は少ない。更に、逆相 TLC は順相 TLC を追って発展して来た実験技術であるためか、基礎的な実験データが文献上に見当らない。その点で、ここでご紹介した実験結果は限定的ではあるが、単に初学者のみならず研究者や分析現場の人たちにとっても興味ある事実を含んでいると思われる所以、ご参考になれば幸甚である。

参考文献

- 1) F. Geiss 著、原 昭二、大森竹塩、成松一久訳 “液体クロマトグラフィーの最適化—薄層からカラムへ、その基本的パラメータ” p. 3 講談社 (1980).
- 2) 功刀 彰、田部井克己、化学と教育、42卷、3号 p. 206 (1994).
- 3) 功刀 彰、田部井克己、同、43卷、3号 p. 178 (1995).
- 4) 功刀 彰、田部井克己、同、43卷、12号 p. 794 (1995).
- 5) 例えば第12改正日本薬局方解説書、p. B-323 広川書店 (1991).
- 6) 石川正幸ら編、“薄層クロマトグラフィー基礎と応用” p. 34、南山堂 (1977).
- 7) E. Stahl, *Pharmaz. Rundschau.*, Vol. 1(2), p. 1 (1959).
- 8) 下沢 隆著、“誘電率の解説”, p. 18, 共立出版 (1967).
- 9) The Chemical Times, 1993, No. 4, p. 86 (1993).
- 10) H. Halpaap, K. F. Krebs, H. E. Hauck, *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Commun.*, 3, p. 215 (1980).
- 11) The Merck Index, 12 th Ed. ed by S. Budavari, Merck & CO., Inc., Rahway, N. J., USA (1989).

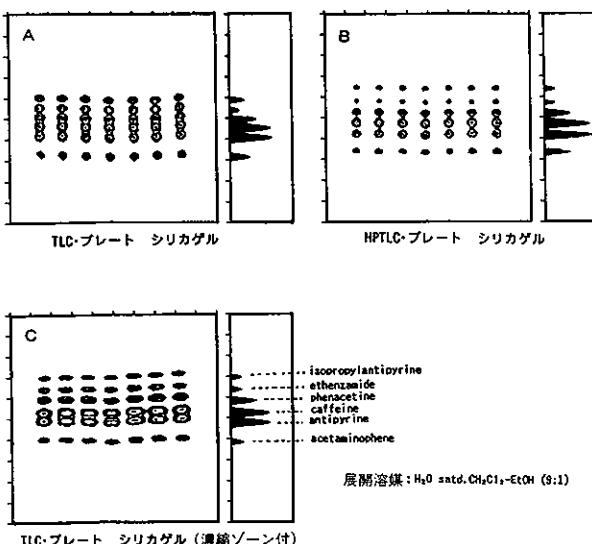


図11. 順相 TLC 板の特性の比較

臨床化学並びに臨床化学検査への接近

16. 脂質検査(リン脂質, 遊離脂肪酸, リポタン白および HDL-cholesterol)

札幌医科大学附属病院 検査部 非常勤講師 佐々木 権一

I. はじめに

前報では、脂質検査として総脂質、cholesterol および triglyceride (中性脂肪)について、生理的並びに診断的意義と、それ等の測定法の解説をした。今回は引続いてリン脂質、遊離脂肪酸、リポタン白 Lp、および HDL-cholesterol について述べてみよう。

II. リン脂質 Phospholipids (PL)

1. 生理的並びに診断的意義：

(1) PL の種類と構造 —— PL はその分子の中にリン酸を含む複合脂質のことである。図 1 に血清中に含まれる PL の種類と、その構造および血清中の含有量をまとめたが、血清中には $195.0 \pm 32.5 \text{ mg/dl}$ と、総 cholesterol とはほぼ同じ量含まれている。その中では lecithin (phosphatidylcholine) が最も多くほぼ $2/3$ ($66.0 \pm 3.5\%$) を占め、sphingomyelin がこれに次いでいる。構造的には sphingomyelin 以外の多くの PL は、glycerol のリン酸エステル結合につづき、含窒素化合物を含んでいる。含窒素化合物としては、choline の他 ethanolamine, serine があげられる。

(2) PL の生理的意義 —— PL は生体中で物質の輸送、細胞分裂、膜結合性酵素の活性の制御等、生体膜の果す重要な役割に関与しているが、これはその分子中に極性部と非極性部とを有しているからである。食餌中の PL は、そのまま、または phospholipase で脂肪酸と glycerol-phosphorylcholine とに加水分解されてから、吸収される。PL は上記含窒素化合物、glycerol および palmitic acid 等の脂肪酸を材料として、主に肝臓で合成される。その後リポタン白の形で血中に存在し、また胆汁中にも排泄される。

(3) PL の診断的意義 —— 血清中の PL の値は、他の脂質成分と類似の変動を示すので、この意味では特異的な診断情報とはいえない。前述の様に PL は主に肝臓で合成され、また代謝されているので、肝機能障害時には低下を示す。また生成の後胆汁中に排泄されるので、閉

塞性黄疸の場合には増加(特に lecithin)がみられる。すでに前報の cholesterol のエステル化反応で示した様に、lecithin : cephalin acyltransferase (LCAT, EC 2.3.1.43) がこの反応に働くおり、したがって肝実質障害や家族性 LCAT 欠損症の場合には、エステル型の cholesterol の低下と共に、相対的な lecithin の増加と lysolecithin の低下とがみられる。PL の増加は、本態性脂質代謝異常、ネフローゼ症候群、動脈硬化症、糖尿病、粘液水腫、甲状腺機能低下症、閉塞性黄疸等の疾患でみられる。一方肝機能障害、甲状腺機能亢進症、Tangier 病、貧血、白血病、骨髓腫、栄養障害等では、PL 値の低下がみられる。

2. 血清 PL の測定法(図 2 参照)：

(1) PL の化学的測定法(従来法) —— 従来 PL は当然化学的測定法により測定されてきたが、湿性灰化の段階を含む等繁雑な上危険試薬を用いる過激な反応条件を要する上、その測定精度にも課題が多くあった。これ等の測定法は大凡次の過程によっている。

- ①有機溶媒による PL の抽出分離
- ②或いはトリクロール酢酸による PL 含有タン白(リポタン白)の沈降による分離(Zilversmit, Hoeflmayr-Fried 法)

③湿性灰化による有機リンの無機リンへの変換
④還元反応による比色定量
すなわちこの反応で PL 中の Pi を定量し、これから PL 値に換算して通常 lecithin として表わす。

(2) 酵素を用いる PL の測定 —— PL の酵素的測定法では、第一段階として phospholipase を用いてエステル結合を加水分解するが、図 3 の様に phospholipase (PL-) A₁(EC 3.1.1.32), PL-A₂(EC 3.1.1.4), PL-C (EC 3.1.4.3) および PL-D (EC 3.1.4.4) により、それぞれ作用点が異なる。現在この中 PL-C と PL-D を用いる酵素的測定法が開発されている。

① PL-C を用いる PL の酵素的測定法：図 4 に示した様に PL (lecithin の例) を PL-C で加水分解し、diglyce-

図1. 血清中の主なリン脂質の血清中含量と化学構造

リン脂質	血清中濃度	化 学 構 造
総リン脂質	195.0±32.5 (mg/dl)	_____
phosphatidyl-choline (lecithin)	66.0±3.5 (%)	<p style="text-align: center;">phosphatidic acid choline</p>
lysolecithin	9.0±2.5 (%)	<p style="text-align: center;">choline</p>
phosphatidyl-ethanolamine	cephalin 4.0±0.8 (%)	<p style="text-align: center;">ethanolamine</p>
phosphatidyl-serine		<p style="text-align: center;">serine</p>
phosphatidyl-inositol		<p style="text-align: center;">inositol</p>
sphingomyelin	21.0±3.5 (%)	<p style="text-align: center;">sphingosine choline</p>

図2. 血清PLの測定法の概要

A. 化学的測定法

- a. 有機溶媒抽出法(湿性灰化硫酸ヒドラジン還元比色法)：
 ① 湿性灰化リン発色法—King法(1932年), Belenblum-Chain法(1938年), Allen法(1940年), Bartlett法(1959年), Baginski-Mitro法(1969年)
 ② 直接発色反応—Rehejas法(1973年), van Gent-Roseleur法(1974年)
- b. トリクロール酢酸沈殿法：
 ① Zilversmit法(1950年)
 ② Hoeftmayr-Fried法(1966年)

B. 酵素的測定法

- a. phospholipase C(PL-C, EC 3.1.4.3)/alkaline phosphatase(ALP, EC 3.1.3.1)/無機リン比色定量法—高橋・平野法(1973年)
- b. phospholipase D(PL-D, EC 3.1.4.4)/choline oxidase(COD, EC 1.1.3.17)/peroxidase(POD, EC 1.11.1.7)比色法—Takayama, et al. の方法(1977年)
- c. 各々のPLの酵素的測定法—後述

C. その他

- a. 各PL分画定量法—TLC法, GLC法, 他
 b. X線蛍光法—Lyden, et al. の方法(1974年)

rideとphosphorylcholineとし, この後者に alkaline phosphatase(PL, EC 3.1.3.1)を働かせて choline を外し, リン酸とする。従ってリン酸をモリブデン酸アンモニウムを用いる Fiske-Subbarow 法で青色として比色測定をする。

② PL-D/choline oxidase(COD, EC 1.1.3.17)を用いる PL の酵素的測定法：この方法は PL を PL-D で加水分解し, phosphatidic acid と choline とが遊離する。この choline に対し COD を働く, H₂O₂ と betaine とにする。この H₂O₂ は適切な共役反応, 例えば peroxidase(POD, EC 1.11.1.7)の存在下で 4-aminoantipyrine(4-AAP)と phenol による酸化的縮合反応を利用し, 生

図3. PLに対するphospholipaseの作用点

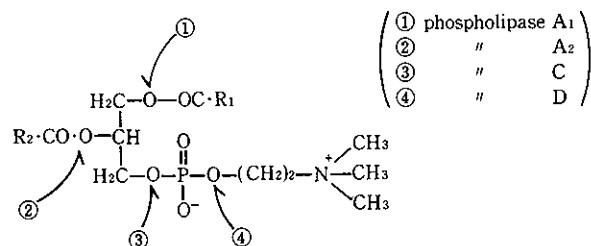
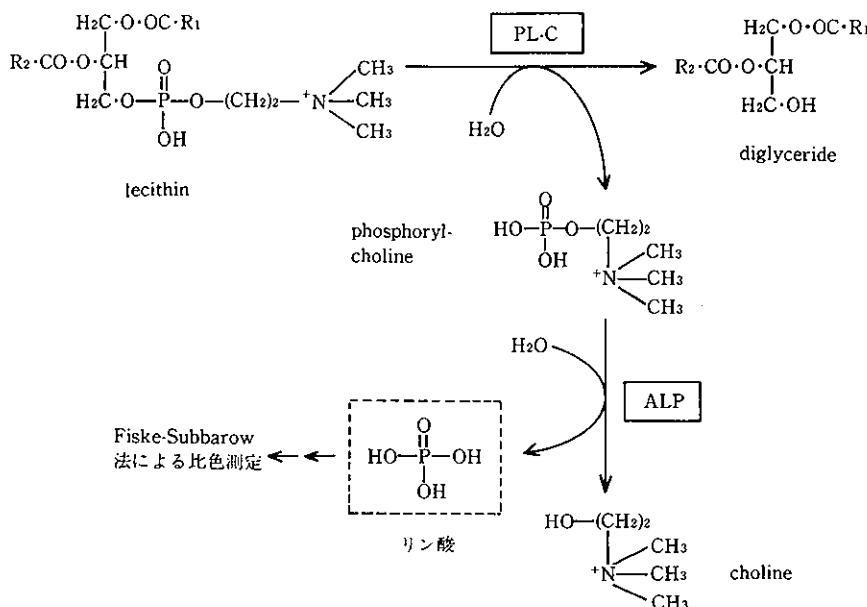


図4. PL-C/ALPを用いるPLの酵素的測定法



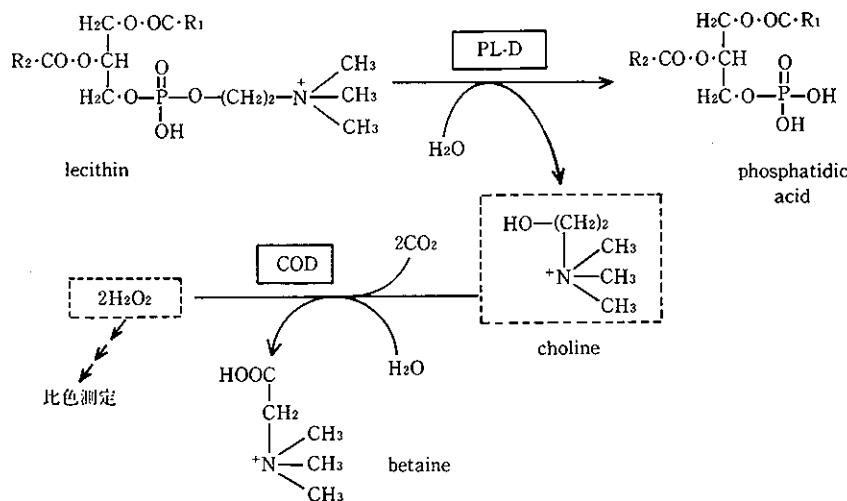
(PL-C: phospholipase-C, ALP: alkaline phosphatase)

成した赤色キノン色素を吸光度測定をする(図5参照)。このCODを共役する方法は現在広く用いられているが、原理から分かる様に、cholineを含むPL(choline PL)のみに有効である。実際には血清中のPLの90数%がcholine PLなので、この点診断上隘路とはならない。

③個々のPLの酵素的測定法：PLの日常検査の主流は総PLを対象としていることは事実であるが、最近個々のPLを酵素的に測定する方法が、多く報告されてい

る。すなわち phosphatidylcholine (lecithin, PC), lyso-phosphatidylcholine (lyso-PC), phosphatidylglycerol (PG), sphingomyelin (sph.), phosphatidylethanolamine (PEA), lysophosphatidylethanolamine (lyso-PEA), および glycerophosphorylcholine (GPC)についての方法があるが、紙面の関係で反応に用いられる化合物や酵素を略記してみよう。

図5. PL-D/CODを用いるPLの酵素的測定法



(PL-D: phospholipase-D, COD: choline oxidase)

- a. PC—PL-C/ALP/COD/4-AAP/phenol 比色法
- b. lyso-PC—lysolecithinase (EC 3.1.1.5)/GPC/GPC-phosphodiesterase (GPC-PD, EC 3.1.4.20)/COD/ H_2O_2 比色法
- c. PG—PL-D/glycerokinase (GK, EC 2.7.1.30)/glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH, EC 1.99.5)/NAD⁺ UV 法
- d. PG—PL-C/glycerolphosphate oxidase (GPOD, EC 1.1.3.21; glycerol oxidase, GOD, EC 1.1.3.21)/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{POD}/4\text{-AAP/phenol}$ 比色法
- e. PG—PL-D/GK/G3PDH/POD/4-AAP/N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-anisidine (EHSPA)//glycerol oxidase (EC 1.1.3.21)/catalase (CAT, EC 1.11.1.6)による内因性の glycerol の消去
- f. sph.—sphingomyelinase (EC 3.1.4.12)/ALP/COD/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{POD}/4\text{-AAP/phenol}$ 比色法

- g. sph.—sphingomyelinase/ALP/choline kinase(CH K, EC 2.7.1.33)/pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40)/lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27)/NADH₂ UV 法
- h. PEA—PLD/ethanolamine oxidase (EAOD, EC 1.4.3.8)/POD/4-AAP/phenol 比色法
- i. lyso-PEA—PL-D/EAOD/POD/4-AAP/phenol 比色法
- j. GPC—GPC phosphodiesterase (GPC-PD, EC 3.1.4.2)/COD/POD/4-AAP/phenol 比色法
- k. GPC—GPC-PD/COD/CAT/acetylacetone 比色法

III. 遊離脂肪酸 Free fatty acid (FFA)

生体試料中の遊離脂肪酸 free fatty acid (FFA) は、炭素数10(C₁₀)以上のものが中心で、しかも炭素数はいづれも偶数である。FFA は triglyceride 等にエステル化して構成成分として含まれているエステル型の脂肪酸 (esterified fatty acid) に対して、FFA は現在あまり使われなくなつたが、非エステル型脂肪酸 non-esterified fatty acid (NEFA)，若しくは unesterified fatty acid (UEFA)とも呼ぶ。

1. FFA の生理的意義：

FFA は血清中では主に albumin と結合しており、一部リポタン白とも結合している。他の脂質に比べてその量は少ないが、代謝上の活性は大きく、血中での半減期は僅か1~2分である。血清中に存在する FFA を表1

表1. 正常ヒト血漿中遊離脂肪酸組成

血中遊離脂肪酸	比率 (%)*
myristic acid (14: 0)	2.3
palmitic acid (16: 0)	25.7
palmitoleic acid (16: 1)	8.5
stearic acid (18: 0)	13.5
oleic acid (18: 1)	26.9
linoleic acid (18: 2)	19.8
arachidonic acid (20: 4)	3.3

*gas chromatography による測定結果

— 中村：日本内科学雑誌52, 789(1963)より引用 —

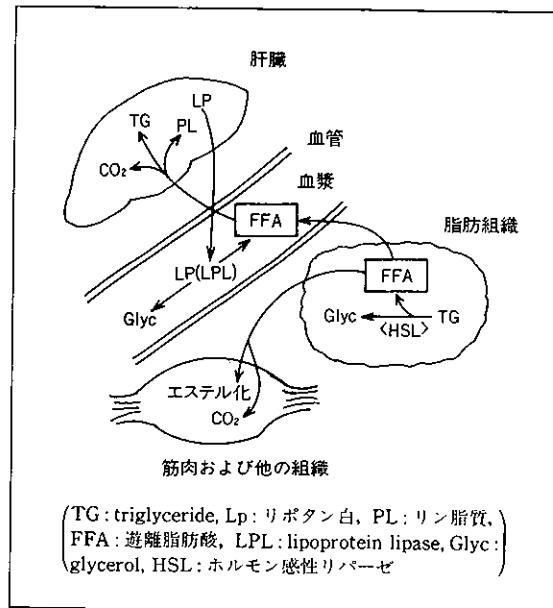
に示したが、 palmitic acid, oleic acid および linoleic acid の量が比較的多く、この3種で2/3以上を占める。(16: 1) は炭素数が16で、二重結合が1個あることを示す。FFA は中性脂肪等からリポタン白リバーゼ (LPL), またはホルモン感性リバーゼ hormone-sensitive lipase (HSL) による加水分解で生成される。脂肪組織中の TG は、この HSL により加水分解されて FFA として血中に送り出され、筋や肝臓等へ供給される(図6参照)。そしてこの TG の水解は、glucagon, epinephrine, norepinephrine, ACTH, 成長ホルモン, 甲状腺刺載ホルモン等により促進され、一方 insulin, prostaglandin, 糖は抑制的に働く。血中の FFA 値は 0.2~0.6 mmol/l であるが、運動、労働、血糖、興奮や他の精神的ストレス等、adrenaline 分泌に影響する因子で変動する。また食事の影響を強く受け、食後 FFA 値は低下する。

2. FFA 増減の臨床的意義：

臨床検査としては、甲状腺機能不全、重症肝障害等糖代謝に異常を来たす疾患の診断に使われる。糖尿病、重症肝障害、肥満症、甲状腺機能亢進症、末端肥大症や、

van Gierke 病、褐色細胞腫、Cushing 症候群、急性心筋梗塞、冠不全、急性肺炎、飢餓、妊娠後期等では、血清中 FFA 値は上昇し、insulinoma, 甲状腺機能低下、汎下垂体機能低下の場合には低値を示す。

図6. 遊離脂肪酸の代謝経路



— 斎藤正行、丹羽正治編：「臨床化学」、p. 160 (1976) より —

図7. 血清中遊離脂肪酸の測定法

- A. 滴定法
 - a. Dole 法(1956, 1960)
 - b. Gordon 法(1957)
 - c. Trout 法(1960)
- B. 金属塩抽出測定法
 - a. 有機溶媒抽出測定法
 - ① Cu 塩法 — 岩山法(1959), Duncombe 法(1964), Itaya-Ui 法(1965), Laurell 法(1967), 久城・福井法(1970)
 - ② Co 塩法 — Novak 法(1965), Elphik 法(1968)
 - b. 抽出原子吸光法 — Cu 塩の測定
 - c. 抽出ラジオアイソトープ計測法 — Ni 測定法, Co 測定法
- C. 酵素的測定法
 - a. acyl-CoA synthetase (ACS)/acyl-CoA oxidase (ACO)/POD 比色法
 - b. ACS/myokinase (MK)/pyruvate kinase (PK)/LDH/NADH UV 法
 - c. ACS/MK/PK/pyruvate oxidase (POP)/POD 比色法
 - d. その他
- D. その他の測定法

[注] 酵素等の略名および EC 番号については本文参照

3. FFA の測定法：

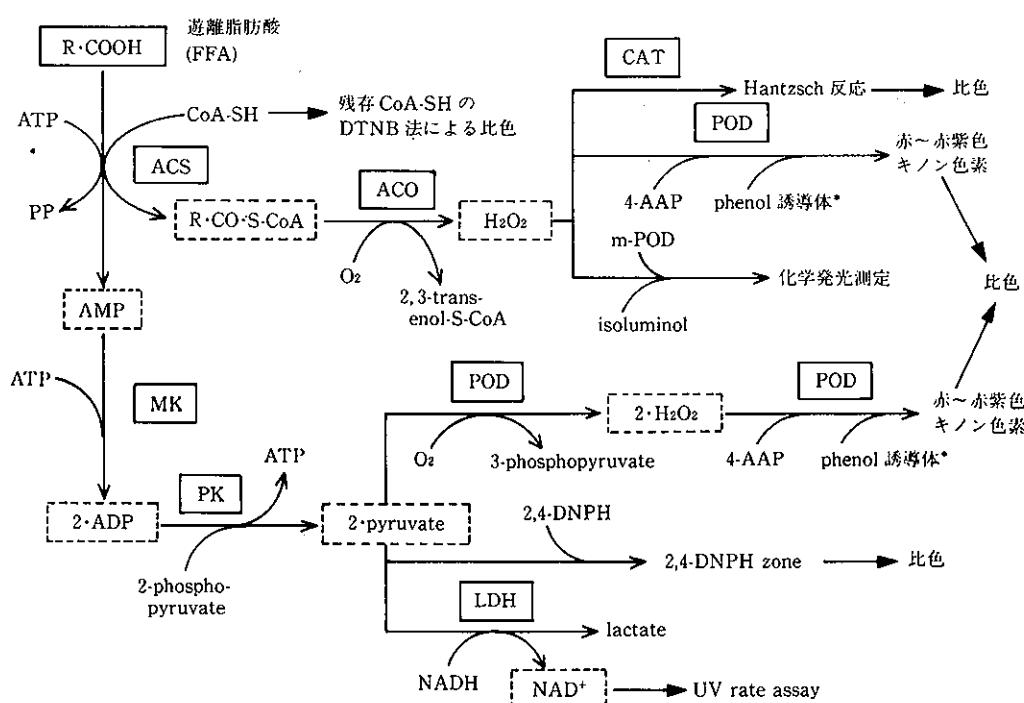
血清中FFAの測定は、以前使用されていた①滴定法、②比色法と③最近の主流である酵素的測定法とに大別される(図7参照)。

(1)FFAの化学的測定法—古くは中和滴定法も実施されていたが、その後化学的測定法の主流は、有機溶媒抽出比色法であった。すなわち、①有機溶媒による抽出、②金属錯体の生成、および③金属の発色反応の3段階から成っており、特にItaya(板谷)-Ui(宇井)法が有名

であった。

(2)FFAの酵素的測定法——現在は操作が簡単で測定精度も良好な酵素的測定法が、多く使われている。現在10種類余の酵素的測定法が報告されているが、その中の代表的測定法を、反応原理を図8にまとめて示した。主なルートは acyl-CoA synthetase (ACS, EC 6.2.1.1)/acyl-CoA oxidase (ACO, EC 1.3.3.1) 系と、ACS/myokinase (MK, EC 2.7.4.3)/pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40) 系である。

図8. 血清中遊離脂肪酸の酵素的測定法の概要



* phenol, PCP, DBP, MEHA, ESPT, TOOS

(CoA-SH : coenzyme A, DTNB : 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoate), ACS : acyl-CoA synthetase, ACO : acyl-CoA oxidase, CAT : catalase, POD : peroxidase, 4-AAP : 4-aminoantipyrine, DBP : dibromophenol, m-POD : micro-peroxidase, MK : myokinase, PK : pyruvate kinase, 2,4-DNPH : 2,4-dinitrophenylhydrazine, POP : pyruvate oxidase, PCP : p-chlorophenol, LDH : lactate dehydrogenase, MEHA : 3-methyl-N-ethyl-N-(β-hydroxyethyl)aniline, ESPT : N-ethyl-N-salforpropyl-m-toluidine, TOOS : N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidine)

IV. リボタン白 Lipoprotein (Lp)

1. リボタン白の構造：

血清中の脂質はほとんどがタン白と結合し、Lp の形で可溶化して存在している。図 9 に Lp 分子がタン白部分 apolipoprotein (apoLP) と、脂質（遊離型およびエステル型 cholesterol, 中性脂肪, PL および僅かな FFA）とから成っている模式図を示した。Lp 分子の apoLP と脂質の構成比により、後述の様な幾種かの比重の異なる Lp となっている。すなわち標準化された条件下での超遠心分離法により、①高比重リボタン白 high-density Lp (HDL), ②低比重リボタン白 low-density Lp (LDL), 超低比重リボタン白 very low-density Lp (VLDL), 並びに中間型リボタン白 intermediate-density Lp (IDL), 超高比重リボタン白 very high-density Lp (VHDL), および chylomicron (脂質含量が最も高く、従って比重は極めて低い) に分類されている。以前は電気泳動による分別法が主流で、易動度の差から α -Lp (HDL に相当), pre- β -Lp (VLDL に相当), β -Lp (LDL に相当) と呼ばれていた。また apoLP も後述の様に A, B, C, E, および A, C の亜群が知られており、脂肪代謝の面からかなり調べられている（表 2 参照）。

さらに最近では電気泳動的には mid-band として検出

される lipoprotein (a) [Lp(a)] が注目されている。化学的組成は LDL に比べてタン白が多く、脂質組成は非常に似ているが、タン白組成は apo B-100 と apo (a) のみである。この apo (a) は plasminogen と構造上の相同意が著しく、クリングル構造を多く有し、apo (a) の性質や機能が Lp (a) の性質や機能を規定している。

図 9. リボタン白分析法の原理と種類

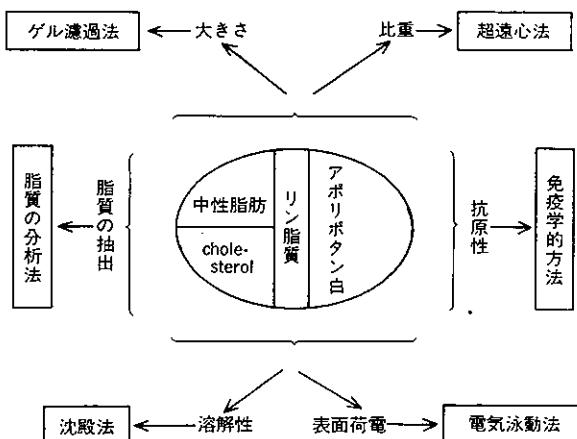


表 2. 血清リボタン白の種類と構成分の比率

Lp 分画	構成分	タン白 (%)	中性脂肪 (%)	遊離コレステロール (%)	エステル型コレステロール (%)	リン脂質 (%)	遊離脂肪酸 (%)	主要アボタン白
chylomicron	chylomicron	1~2	80~90	1~3	2~4	3~6	0	A-I, C-I, II, III, B, E
VLDL	pre- β -Lp (α_2)	8	50~70	7	12	15~20	0	B, C-I, II, III, E
IDL		11	40	8	27	18	0	B, E
LDL	β -Lp	21	10	8	37	22	1	B
HDL ₂	α_1 -Lp	41	5	6	18	30	1	
HDL ₃	α_1 -Lp	56	5	3	13	22	1	
VHDL		62	5	0.5	3	29	5	A-I, II, PRP*

* proline-rich protein

2. Lp の生理的意義（表 2 参照）：

chylomicron は TG を最も多く含み、その大部分は外因性のものである。食後に増加し、そのため血清は乳白色を呈する。しかし heparin により脂肪組織、心、肺から Lp を分解する酵素のリボタン白リバーゼ (LPL) が動員され、これが清浄因子（透明化因子）clearing factor として働くことにより、時間と共に透明化する。VLDL は肝臓で合成された脂質を、末梢組織へ運ぶ役割を果している。末梢組織では LPL の作用を受けて TG や cholesterol, PL の一部を放出して HDL となり、IDL を経て

LDL となる。一方 LDL は全体の 40~50% を占めており、cholesterol 含量が多く、末梢組織へ cholesterol を運ぶ役割を担っている。タン白部分は apoLP B がほとんどである。一方 HDL は LDL と逆に末梢組織より cholesterol を肝臓に輸送する役割を有し、この点 HDL 中に含まれる cholesterol (HDL-C) は“善玉コレステロール”とも呼ばれている。

3. Lp の臨床的意義：

一般的に血漿中の脂質成分が異常高値を示した場合を、高脂血症 hyperlipidemia と称するが、通常各脂質成分や

各 Lp 成分の上昇により図10の様に表わされている。さらにこれ等はその原因から、本態性高脂血症、脂質代謝異常の原因疾患のないものと、二次性高脂血症（種々の疾患に伴つておこる高脂血症）とに分けられる。血漿中 Lp 値の増減する疾患は、

① 血漿 Lp 値の上昇する疾患——Frederickson II, III 型の高脂血症、ネフローゼ症候群、甲状腺機能低下症、糖尿病、閉塞性黄疸、肝炎、肥満症、動脈硬化症、妊娠、その他

② 血漿 Lp 値の減少する疾患——無 β -Lp 血症、無 α -Lp 血症、甲状腺機能亢進症、肝硬変、重症肝実質障害、吸収不全、悪液質等である。血清中 Lp(a) は動脈硬化性疾患、特に虚血性心疾患、脳血管障害、閉塞性末梢動脈硬化症、高脂血症、糖尿病、腎疾患、膠原病等での高値が知られている。

4. Lp の測定法：

Lp のどんな性状に注目して、どんな測定法が実施されているか、図9から知ることができる。Lp の測定法をまとめて図11に示したが、これらの中で実用性の点では電気泳動法、標準的分画法としては超遠心法が主流である。また結合沈殿法は、例えば HDL-C 測定の目的に用いられる（後述）。

図10. 高脂血症の分類と名称

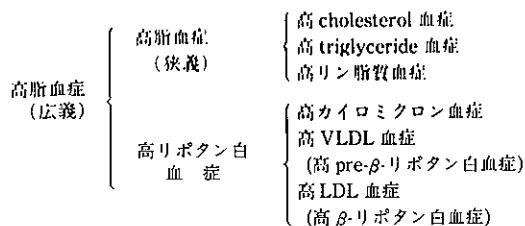


図11. 血清リポタン白の分離測定法

A. 塩析法 —— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , NaCl 使用

B. 冷エタノール法

- C. 電気泳動法
 - a. cellulose acetate 膜
 - b. agarose gel
 - c. polyacrylamide gel
 - d. 寒天ゲル
 - e. デン粉ゲル
 - f. 濾紙

D. 超遠心分離法

E. chromatography

- F. 免疫学的方法
 - a. 一次拡散法 (SRID 法)
 - b. 毛細管内沈降法 (immunocrit 法)
 - c. ロケット免疫電気泳動法 (Laurell 法)
 - d. その他
- G. 総合沈殿法
 - a. heparin- CaCl_2 法
 - b. 硫酸デキストラン- CaCl_2 法

V. 高比重リポタン白-cholesterol (HDL-C)

1. HDL-C の生理的意義：

HDL 中に含まれる cholesterol は HDC-C と呼び、HDL-C の増減は血清中の cholesterol 値の増減との関連において注目されている。従来は血清中の cholesterol 値の上昇は、冠動脈性心疾患の危険因子 risk factor として監視しているが、HDL-C は逆に低い方が危険度が高い、すなわち negative risk factor である。LDL や VLDL で血管壁等末梢組織に運ばれ蓄積した遊離型 cholesterol は、HDL が選択的に取り込み (HDL-C となる), LCAT によりエステル型 cholesterol となり肝臓に運ばれる。すなわち HDL は LDL 受容体と競合して LDL が細胞内に入るのを防ぎ、cholesterol の沈着や蓄積を抑えて抗動脈硬化作用を発揮している。女性の方が男性よりも冠動脈性心疾患が少ないことが知られているが、これは HDL-C 値が男性よりも高めであることからも裏付けられている。

2. HDL-C の臨床的意義：

従来高脂血症、高血圧、肥満、糖尿病、慢性腎不全、心電図異常、眼底所見異常、運動不足、喫煙、アルコールおよび男性であること等が、冠動脈性心疾患の危険因子とされてきたが、血清中 HDL-C 値の減少も同様な範疇に入る。

3. HDL-C の測定法：

HDL-C の測定法としては、先ず HDL を他の Lp から

図12. 血清 HDL-C の測定法

A. 超遠心法

- a. 本格的超遠心法 (リポタン白分画基準法)
- b. 微量超遠心法-airfuge 法

B. Column chromatography

- a. ゲル遮過法、他

C. 電気泳動法

- a. cellulose acetate 膜 (Titan III 等) 法
- b. agarose 膜 (Polyfilm 等) 法
- c. acrylamide gel 膜法
- d. その他の支持体を使用する法

D. 沈降法

- a. heparin/ Mg^{2+} (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+}) 法
- b. dextran 硫酸/ Mg^{2+} (Ca^{2+}) 法
- c. K-寒天/ Mg^{2+} 法
- d. リンタンクスチン酸/ Mg^{2+} 法
- e. 等電点沈殿法 (リントンスチン酸使用)
- f. その他

E. その他の方法

- a. 酵素的測定法—polyethylene glycol 处理酵素と α -cyclodextrin- SO_4 を用いる方法
- b. 免疫学的方法—特に Lp 用直接法
- c. その他

分別し、それからその中の cholesterol 値を求めることがある。図12に示した様に、本格的な超遠心法から、column chromatography 法や電気泳動法、その他があるが、多糖体と2価陽イオン等を組み合わせた試薬で、HDL を特異的に沈降させる沈降法が圧倒的に多い。HDL 分画を得てから、その中の cholesterol 量を酵素的測定法で定量する。

最近 polyethylene glycol (PEG) で前処理をした酵素——cholesterol oxidase (COD, EC 1.1.3.6), cholesterol ester hydrolase (CEH, EC 3.1.1.13)——を用い、選択的沈降分画によらずに HDL-C を測定する方法が報告され、注目されている。この方法では沈降した分画の分別等が不要で、自動化へも適用できる直接法であるという利点がある。

カンジダの迅速鑑別・早期治療に

カンジダの
スクリーニング培地
CHROMagar® Candida

【特徴】

- ①コロニーの着色により、複数菌の検出が容易になります。コロニーの見落としが少なくなります。
- ②臨床上検出頻度の高い酵母様真菌の判別が容易になり、同定検査にかける手間やコストが大きく軽減します。
- ③クロラムフェニコールにより、一般細菌の発育を抑えるが、糸状菌などの発育は抑制しません。

【鑑別される菌種と特徴】

35~37°C、48時間培養後、コロニー形態と色調は以下のようになります。

<i>C.albicans</i> :	緑色、S型コロニー
<i>C.glabrata</i> :	紫色、S型コロニー
<i>C.tropicalis</i> :	濃い青色、S型コロニー、青紫色のハロー形成
<i>C.krusei</i> :	ピンク色、R型コロニー
<i>C.parapsilosis</i> :	真珠様の白色、S型コロニー

この他、

*Cryptococcus, Trichosporon, Rhodococcus, Aspergillus, Saccharomyces*などほとんどの真菌の発育を支持します。

【組成】

ペプトン	10g
特殊色素混合物	22g
クロラムフェニコール	0.5g
カンテン	15g
pH=6.1-6.5		

【産婦人科への応用】

検出頻度の高い*C.albicans, C.glabrata, C.tropicalis*などが特徴のある色調により早期に鑑別できます（上記参照）。

 関東化学株式会社

103 東京都中央区日本橋木町3-11-5 フルサンビル2F ☎03(3667)8061
541 大阪市 中央区瓦町2-5-1 ☎06(222)3709
812 福岡市博多区山王1-1-32 博多城ビル ☎092(414)9361

宇宙の彼方に生命を求めて

その5. 太陽系唯一の地球型惑星である火星の生命探査

東京工業大学 生命理工学部 理学博士 小 池 悠 平

プロローグ

200X年、日本における本格的な火星探査がいよいよ始まった。今から9か月前、H-IIロケットによって打ち上げられた探査機『火星1号』は、いよいよ火星を周回する軌道に入った。その周回軌道は火星表面から最も近づいた時が600km、最も離れた時が2000kmのゆったりとした橢円軌道をとる。この軌道は火星の二つの衛星、ダイモスとフォボスの軌道高度にそれぞれ当るものである。探査機はしばらく二つの衛星に交互に接近してリモートセンシングによる探査を行った後、宇宙船の軌道はフォボスとほぼ同じ軌道に移され、200日にわたるフォボスとのランデブー飛行を行う。その間に、フォボスの全表面にわたって組成、地形、地質などを調べ、最後に宇宙船をドッキングさせてさらに観測を行う。これらの観測結果を基に、フォボス全城の詳細な地形図を作り上げる。実は次に打ち上げる宇宙探査船『火星2号』をフォボス表面に着陸させ、火星を長期にわたって調べるために観測ステーションにしようと考えており、このミッションの最大の目的はその設置場所を決めることがある。フォボスに観測ステーションを置こうと考えたのは次のようなわけがある。まず、火星表面からの距離が約6000kmとそれほど遠くなく火星表面の詳しい観測が十分可能である。また、フォボスの自転周期は火星を回る公転周期とほぼ一致しているので、火星に対して常にきみた面を見せることになる。したがって、そこに設置されたステーションからは常時火星を観測することができるわけである。

火星探査の第二ステップではフォボスの火星表面側に探査機『火星2号』を着陸させて観測ステーションとする。そして、火星の極軌道を回るオービタを打ち出して、火星の全表面の探査と火星環境の調査を一年間にわたって行う。さらに、フォボス表面から火星に向ってテザーと呼ばれる、長い長いワイヤーをのばし、火星大気の観測を行う。これらの観測で火星表面の詳しい地形や表面組成、特に生命探査を行うのに最も興味深い場所を探す

ことになる。ここに次のステップで打ち上げる探査機『火星3号』を着陸させようというわけである。また、火星表面の季節変化や気象現象など、時間的変化をともなうもののモニターも行う。その他、火星表面に起る隕石の衝突などについても、どのくらいの頻度で、どのような現象が起こっているかが分かってくるであろう。さてこのようにして着陸地点が決まる頃には、次のステップの準備が始っている。

火星探査の第三ステップでは生命探査を最大の目的にした着陸船『火星3号』が打ち上げられる。生命探査に最適な場所に着陸した探査機はローバーという火星表面を自由に移動する自動車でサンプル採取と分析実験を一ヶ月にわたって行う。さらに、得られたサンプルのいくつかは地球に持ち帰り、さらに詳細な分析実験を行う。

人類がいつの日か地球を飛び出して最初に本格的な基地を築く場所は、火星をおいて他に探すのは難しい。ここに提案した三つのステップからなる火星探査ミッションは、その第一歩というべきものなのである。このミッションでは最大の目標を生命探査に置いている。将来火星探査が活発になり、地球から送られる多数の探査機によって火星が汚染される前に、まず生命探査を十分にやっておこうというわけである。そして、基礎的な探査に続く宇宙開発の将来は「宇宙資源の利用」、「火星基地の建設」、そして火星を人類が生存できるような環境に変える「火星のテラフォーミング」と発展していくであろう。

(科学技術庁航空宇宙技術研究所主任研究官・松島弘一氏の未発表報告「日本の火星探査計画」より)

もし太陽系の惑星の中でどの惑星に最初に行きたいかといえば、それは火星であろう。そう考える理由は、火星が地球に大変似ている惑星であるからである。24時間と40分周期で1日が繰り返され、一年は687日で暮れる、さらに極軸が地球と同じ位の角度で傾いているために四季の変化があり、大変に薄いが大気があり、夜には霜が降る、風が吹き、空には雲が浮かび、夕焼けだってある……。というわけで、地球と同じではないが、しかし

つたく異質の風景がそこに展開されているわけでもない。したがって、灼熱地獄の金星に降り立つよりも、あるいは木星の底なしのガスに飛び込むよりも、まず訪れるべき惑星は火星ということになるであろう。その上、地球のお隣りでそんなに遠くない。しかしそれだけの理由ではない、忘れてならないもう一つの大きな理由は、生命の生存に対する期待である。知的生命は難しいにしても、非常に原始的な生命が見つかる可能性は十分にある。何か生命体が見つかれば、それは地球外生命の第一号である。

原始火星環境は生命を誕生させたか？

45億年前、太陽系が形成された時、地球も火星もほぼ同じ時期に作られたとされている。現在の火星は凍てついた砂漠と岩石で表面は覆われているが、かつては海に覆われた温暖な気候の惑星であったと考えられている。それではここで、過去に火星に生命が誕生したか、あるいは誕生する可能性があったか検証してみよう。

地球の生命は30数億年前に水の存在下でアミノ酸、核酸塩基といった低分子の有機化合物が出来、こうした化合物から生体高分子であるタンパク質や核酸が生成し、そして炭素化合物を中心とする有機化合物が一連の反応をおこした結果、生命が誕生したと考えられている。1953年、「ミラーの実験」として有名な研究で彼はメタン、アンモニア、水の混合気体に火花放電を行うことによって、数種類のアミノ酸が生成することを初めて実験的に検証した。しかし、原始地球大気は今日では彼の用いたメタンやアンモニアをほとんど含まず、二酸化炭素、一酸化炭素、窒素、水蒸気を主とするものだったと考えられている。その後、多くの研究者によって同様な実験手法を用いて、もっと多くの種類のアミノ酸や核酸塩基が高収量で出来ることが確認されている。こうした化学進化の実験的検証とは別に、海底の熱水噴出孔を原始地球生命の誕生の場と考え、近年研究がさかんに進められている。しかし、生命誕生にとって、最も重要かつ必要な核酸やタンパク質のような生体高分子物質や細胞の構成物質として重要な細胞膜がいかにして生成されたのかは現在のところ確かな証明はされていない。

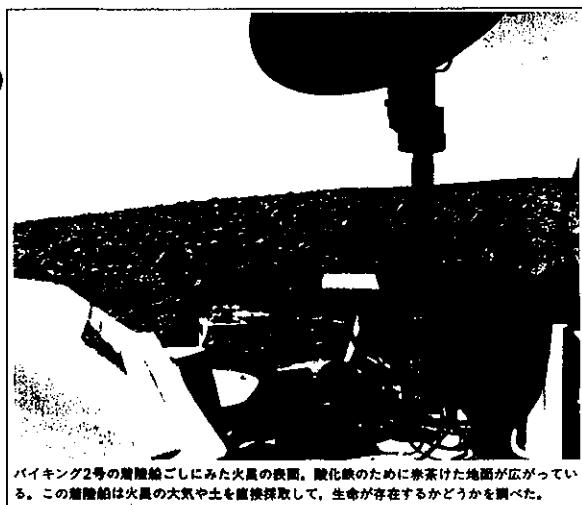
それでは、“火星で生命が誕生する可能性はどうであったのか？”火星は出来てからしばらくの間は地球と同じ運命をたどったと考えられている。つまり、海が存在し、川が流れ、火山は噴煙を上げていたのである。その証拠は現在も火星表面に数々残されている。たとえば、かつて水が流れ砂州のようなもので出来た「しづく型」の地形もその一つである。つぎに、筆者と共同研究者である

横浜国立大学の小林憲正氏らの実験を紹介する。彼等は原始火星大気である一酸化炭素、二酸化炭素、窒素、水の混合ガスに宇宙線の主成分である陽子線を加速器を用いて照射し、その主成分を分析した。その結果、グリシン、アラニン、アスパラギン酸を始めとする多種類のアミノ酸が生成することを実験的に証明した。こうした結果から判断すると、原始火星環境でも地球と同じ様に生命が誕生するだけの条件は十分とのっていたことになる。

“どんな生命が誕生したのであろうか？”地球の場合を例にとって解説してみよう。地球は40数億年前に出来てから、約10億年の間に化学進化が進み原始生命が誕生したとされている。その原始生命は原核細胞の単純な細菌のようなものであったであろう。つまり、自己再生のための最小限の情報を持った遺伝子と、エネルギー代謝のためのわずかな酵素類を膜で包んだだけの簡単なものであったであろう。その後、約20億年かかる多細胞生物に進化している。それでは、火星の場合はどうであったのだろうか。先程から幾度も述べているように、火星が誕生してからほぼ10億年位は原始火星には海があり、温暖な湿った大気があったと考えられている。したがって、地球と同じ様に単純な生物が発生してもけっして不思議ではない。そして、当然のことながら、その生命誕生の場は海底の熱水噴出孔のまわりであったであろう。しかし、火星はその後、徐々に冷えてしまったため、それ以後の進化は非常に遅く、真核細胞が出現したかどうかは不明である。ただ、冷えたが非常にゆっくりしたものであったならば、当然、真核細胞を持った光合成をする藻類のようなものが繁殖したであろう。一方、急激に冷えて水がなくなってしまったとすれば、真核細胞はおそらく原核細胞さえ生成されたかどうか怪しくなってしまう。つまり、火星の場合、いつから、どのようにして冷えてしまったかが生命誕生を解く大きなカギになる。ただし、火星の表面には超酸化物が多量にあり、水があると化学反応をおこして酸素を発生するので、一足飛びに酸素呼吸形式を獲得しているかもしれない。すると、かなり複雑な生物が生まれた可能性もあることを忘れてはいけない。ただ、現在のところこの疑問を解くにはあまりにも情報が不足しているのが現状である。近い将来、火星探査が行われればこうしたことが明らかにされるはずである。ともかく、筆者のように宇宙生物学などという特殊な分野を専門としているものにとっては、憶測だけで勝手なことを言えるのも今の内だけであろうと考え、いろいろなところで宇宙のロマンに関して語っている昨今である。ありがたいことである……。

今でも生存している可能性はあるか？

人類が火星の生命探査を直接行ったのは1976年バイキング探査船によって行われたのが最初である。今から20年も以前のことである。その時は残念ながら生物の存在は否定された。その際、撮影された火星の地表面の写真がこれである。本稿は白黒のため、色の具合はわからないであろうが、全体に赤茶けた地表面でおおわれ、その上に直径40センチ前後の石がゴロゴロところがっているといった殺伐とした感じで、緑は一切見られない。空は地球の夕焼けのように赤っぽく染まっている。



バイキング2号の着陸船ごとにみた火星の表面。酸化鉄のために赤茶けた地面が広がっている。この着陸船は火星の大気や土を直接採取して、生命が存在するかどうかを調べた。

ニュートン Vol. 13 No. 9, 1993 より

さて、火星に生物がいるかどうかはまだだれも知らない。ただ地球を除く太陽系惑星のなかでは、火星は最も生命誕生の可能性があったと考えられている。その根拠としては、水の存在である。前述したように火星にはかつて海があったとすると、その水は現在どこへいったしまったのであろうか。この疑問に正確に答えられる十分なデータは今のところないが、一つの答えとして極冠には少なくとも氷があることは確認されている。火星の極冠には冬に形成される季節的な極冠と、一年を通じて存在する極冠がある。季節的なものは大気中のCO₂が凝縮してできる。一方、一年中存在するものは主として水の氷でできている。ちなみに、北極冠は直径1000～2000km厚さ4～6kmで北緯75度近くまで広がっている。一方、南極冠はずっと小さく直径300～700km厚さ1～2kmで南緯80度に位置している。さらに、地下には永久凍土として氷の層があると考えられている。こうした、氷の総量は火星の全域を海が覆うとして、深さ6～500メートルに

達するだろうと言われている。こんなに水があることじたい、非常な驚きであるが、液体状態の水の存在は残念ながら報告されていない。ただ、火星は地球と同じ様に自転軸が傾いて（傾斜角は地球23.5度、火星25.2度）回転しているため、一年を通じて四季の変化があり、極冠の氷の周辺部は溶けたり凍ったりしている。さらに、バイキングの観測でわかったことであるが降霜が観察された。そうすると、その部分は水が一時的にしづら存在しているわけであるから、ある種の生物は今でも繁殖しているかもしれない。

こうした考察の基に、それではどんな生物が生存している可能性があるのか、筆者らは火星の環境によく似た環境を作り、様々な生物をその環境に入れて生存実験を行ってみた。実験は全て模擬火星環境を作るための特別な装置（クライオスタートと呼んでいる、本誌1990年No.3に本装置の構造と機能に関しては詳細に記載してあるので、興味のある方は参照されたい）を考案して実験を行った。地球の色々な生物といつても大型の動物や植物は本装置では実験できないため、種類の多様性から判断して微生物を用いることにした。その中には日常われわれの目にふれているカビや細菌のほか、数は少ないが特殊な環境（高温あるいは低温な場所、酸素のない所など）でなければ生育できないような極限微生物も含まれている。こうしたできるだけ広い範囲の微生物を選んで生存実験を行った。火星で200年間に浴びるのと同量の紫外線と宇宙線を実験室で10分間という非常に短い時間で浴びせたのにもかかわらず、枯草菌の胞子は25%、クロコウジカビの胞子もやはり25%も生き残っていた。さらに、嫌気性細菌や藻類も生き残っている可能性が高い。

Table 2 List of microorganisms used

Enterobacteriaceae; <i>Escherichia coli</i> K-12 (facultative aerobic, 37 °C, intestine)
Bacillaceae; <i>Bacillus subtilis</i> 219 (facultative aerobic, 5-55 °C, soil)
Micrococcaceae; <i>Micrococcus luteus</i> (aerobic, 25-30 °C, soil and water)
Fungi; <i>Aspergillus niger</i> (aerobic, 5-25 °C, soil)
Aerobic bacteria; <i>Clostridium mangenotii</i> DSM 1269 (strictly anaerobic, 25-37 °C, soil)
<i>Clostridium propionicum</i> DSM 1682
<i>Clostridium roseum</i> DSM 51
<i>Clostridium butyricum</i> ICM 1391
<i>Clostridium celatum</i> DSM 1785
Algae; <i>Apotococcus lobatus</i> CCHU-Banda 329h (facultative aerobic, 5-20 °C, air, water and soil)
<i>Chlorella ellipsoidea</i> CCHU-Banda 329K
<i>Chlorella reisigkii</i> CCHU-Banda 404b
<i>Diplosphaera chodatii</i> CCHU-Banda 338-1
<i>Diplosphaera chodatii</i> Nakano 320K
<i>Stichococcus bacillaris</i> Nakano 558P

一方、極冠の氷の中に埋もれている微生物がどのくらい生き残れるかをみるために、枯草菌の胞子の表面を火星大気のガスで作った氷で覆い、2000年分の紫外線と宇宙

線を浴びせたところ95%も生き残っていた。こうした我々の実験から推察すると、火星の現在の環境でもある種の微生物はわずかではあっても増殖しているか、増殖はしないまでも生き残っている可能性は十分にあると考えられる。

近年、火星の生物が国際的に再び注目され始めてきている。これを我々は“Return to Mars, 火星に今一度”と呼ぶことを提案している。

Table 3 Survival of terrestrial microorganisms after exposure to proton and UV radiation corresponding to about 200 years on Mars

Microorganisms	Viable cell number (cells/ml)		Percent survival
	Nonexposed	Exposed	
<i>Escherichia coli</i>	2.6×10^7	2.2×10^7	0.8
<i>Bacillus subtilis</i> (spores)	8.5×10^7	2.1×10^7	25
<i>Micrococcus luteus</i>	1.3×10^8	1.1×10^7	8
<i>Aspergillus niger</i> (spores)	1.3×10^8	3.2×10^4	25

火星の生命探査はどの場所をするか？

火星の生命探査を考える場合、まず地質年代と地形を考えなければいけない。火星の40億年から35億年前は地球と同じ様に海があったと考えられ、その後徐々に冷えて今の冷たい惑星になったと考えられていることはすでになんども述べた。したがって、火星で生命が誕生した

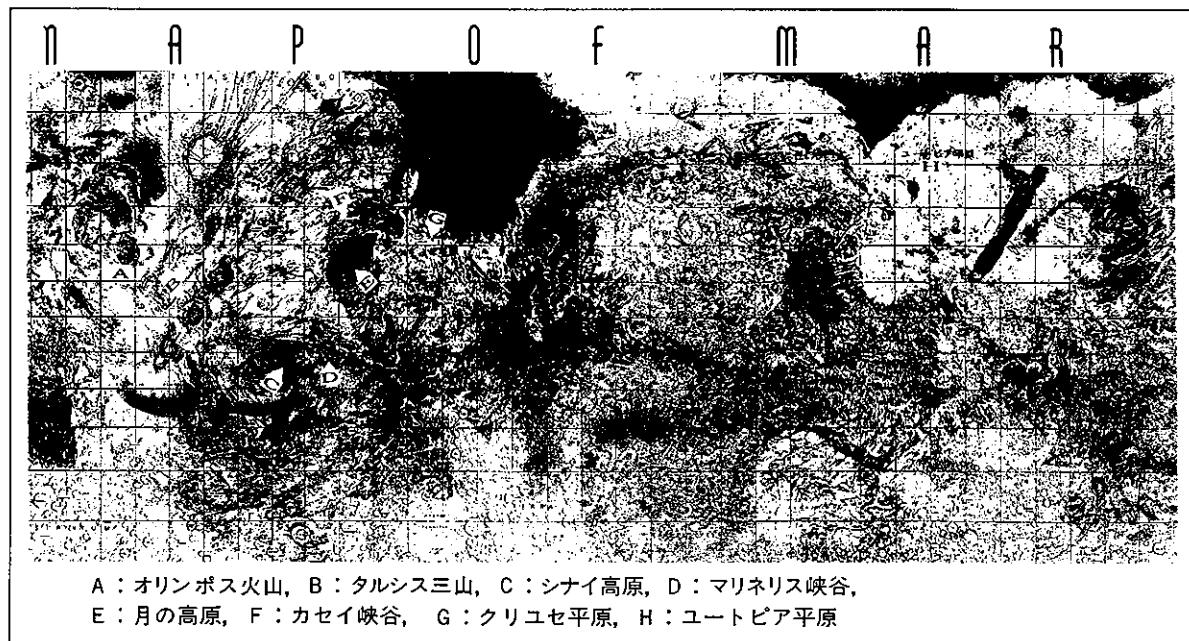
Table 4 Survival of anaerobic bacteria and algae after exposure to proton and UV radiation corresponding to about 200 years on Mars

Microorganisms	Survival	
	Nonexposed	Exposed
<i>Anaerobic bacteria:</i>		
<i>Clostridium selenogenes</i>	+++	+
<i>Clostridium propionicum</i>	+++	++
<i>Clostridium roseum</i>	+	+
<i>Clostridium butyricum</i>	-	-
<i>Clostridium celatum</i>	-	-
<i>Algae:</i>		
<i>Astrococtus lobatus</i>	+++	+
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	+++	+
<i>Chlorella reisigkii</i>	+++	+
<i>Diplosphaera chodatii</i> 338-1	+++	+
<i>Diplosphaera chodatii</i> 320X	+++	+
<i>Stichococcus bacillaris</i>	+++	+

Table 5 Survival of *Bacillus subtilis* spores after exposure to proton and UV radiation corresponding to about 2000 years on martian polar caps

Nonexposed	Exposed	
	Not ice covered	Ice covered
6.6×10^8 (100%)	0	6.3×10^8 (95%)

とすればこの時期であろう。現に、地球ではこの時期に原始生命が誕生し、単細胞生物が増殖したと考えられている。それでは火星のどこでいつ生命が誕生したのだろうか。地質年代からみて Noachian から Hesperian であろう。しかし、この地質年代は研究者によってかなり差異があるが、ほぼ40億年から30億年前に形成されたもの



アメリカ地質研究調査所作成による火星地図（写真：PPS通信社）
大林組季刊第33号 特集「火星」より

であると考えてよいであろう。この地質が現在でも見られるのは南半球の高地である「月の高原」や「シナイ高原」そして「タルシス三山」である。北半球のクレーターの少ない地域は比較的新しい地層であり、生命が誕生した時期以降に出来たと思われる。したがって、生命探査の第一候補地はこうした古い地形を持った、特にかつて水が流れてきたと考えられる「マリネリス峡谷」や「カセイ峡谷」である。ただし、この場所では生きている生物が見つかる可能性は少ないと、ここでは主に原始生物の微化石を見つけることであろう。もし、現在の火星で生きている生物を見つける可能性があるとすれば、氷の溶けたり凍つたりしている極冠の周辺地域か、地下の永久凍土の帶水層であろう。地球型生物が生育するためには水の存在は必須条件である。上記した我々の実験結果から推察して、水さえ存在すれば現在の火星環境でも低温の独立栄養嫌気性微生物の生育は十分可能である。そして、現在でも進化の過程をゆっくりと歩み続けているのかもしれない……。

こうした火星の詳細な状態を知るためにも、フォボスからの長期観測が必要である。ただ、実際に火星探査を行う前に「宇宙からの地球生命探査」のデータ集積が必要である。つまり、地球周回軌道の地球観測衛星を使って、地球上の砂漠やシベリア永久凍土のリモートセンシングを行い、砂漠の水分や有機物の検出および永久凍土での生物生態や凍土の厚さの測定など今すぐにでもとりかかる実験を行うのが早急に必要である。

どんな探査方法を用いたらよいか？

1976年、米国が行ったバイキング計画は、バイキング1号がクリュセ平原に、バイキング2号がユートピア平原に軟着陸し生命探査を行った。バイキング探査の目的は、火星の表面に生命の徵候を見つけることであった。しかし、生命の痕跡は見つけることはできなかつたが、生命を維持するのに必要な元素がすべて火星表面で見つけられたことは意義深い。バイキングが生命探査をしたこの当時としては、考えられ得る最高な技術を用いたわけではあるが、現在、我々からみると改良の余地はたくさんある。ここでバイキングの実験の問題点を整理してみよう。

- 1) 試料採取の場所が不適当であった：生命探査を行ったのはバイキング2号であるが、着陸地点のユートピア平原は地球でいうと砂漠と同じような環境で、生命探査をするのには誠に具合の悪い場所であった。おまけに、表面の土しか調べていない。前述したように、火星表面は強い紫外線や宇宙放射線にさらさ

れでいるため超酸化物でおおわれている。生命が存在するには厳しすぎる環境である。したがって、この着陸地点で生命探査実験を行うのであれば地下少なくとも数十センチから数メートル掘削して試料を採取すべきであった。

- 2) テレビカメラによる火星の状態の撮影では分解能が不足していた：ビジコンとよばれる最もオーソドックスなカメラで着陸船のまわりの観察を行ったが、このカメラの空間分解能は1.5メートルはなれた位置で数ミリメートルであり、これでは微小生物の検出は不可能である。
- 3) ガスクロマトグラフ・質量分析器による有機物探査実験：実験方法そのものは間違っていないし、現在でもさして分析能力はあがっていない。ただ、試料が地表面であったために超酸化物の混入により分析妨害があったものと考えられる。
- 4) 代謝実験および光合成実験は実験条件がむずかしく適当ではない：採取した土に培養液や二酸化炭素、光をあたえて発生するガスを分析するという方法であるが、どんな培養液を使うかによって結果がまったく異なってしまう。また、代謝実験は生きている生物しか検出できない、死んでしまったものや微化石は検出できないという不都合がある。

近年、こうしたバイキング実験の問題点を解決できる非常に特殊な方法を筆者と共同研究者である三菱化成生命科学研究所主任研究員の河崎行繁氏によって開発された。これは螢光顕微鏡と画像処理法を組み合わせたものであって、適当な条件下で、ある化学物質を使うと生物のもっている酵素と反応して螢光を発する物質がつくられ、それが生物の体を染めて光を発するという原理である。したがって、土の試料にこの化学物質をふりかけて、数分間放置した後に螢光顕微鏡で観察するだけで生物が存在すれば螢光を発するのでそれを観察するというだけの非常に単純な操作で、驚くほど検出能力の高い結果が得られる。ちなみに、この方法を地球土壤に応用してみた結果、微生物の一個一個の細胞が鮮明に検出できた。さらに、染色条件を選べば、1) 生きた状態のもの、2) 死んだもの、3) 死んである程度分解が進んでいるもの、といったような種々の状態を容易に判別することもできる。たいしたものである！この方法は培養液を加えたり培養したりする必要がないので、未知の生命の探査には大変適している。さらに、試料を本来の条件に近い状態で分析できるので、生物の生態も同時に知ることができるという利点もある。

これに近年目覚ましい進展を見せている遺伝子解析で

つかっているPCR法を併用すれば、その生物がどんな種類に属するのかも知ることができるであろう。今後の生命探査はガスクロマトグラフ・質量分析法に加えて、螢光顕微鏡画像法や遺伝子解析法による直接探査の手法も併用すべきである。

あとがき

我国も宇宙開発に関してはH-IIロケットの開発によって、やっと国際的な宇宙開発競争のスタートラインにつくことができたという感がある。しかし、米国やロシアはすでに1周半ほど先を走っている現状を考えると、喜んでばかりはいられないといった心境である。ただ、米国のスピードが鈍っている今が追いつく絶好の機会であろう。しかし、ここで考えなければいけないことは、なぜ(Why)宇宙開発が必要なのか？それが国威の高揚のため（この言葉に嫌悪感を持つ人もいるであろうが…）でも、宇宙科学の進展のためでも、フロンティア精神でも何でもよいが明確な目的意識を持つことがまず必要であろう。日本はこの点であまりにもロマンがなさすぎると思う。つぎに、何を(What)行うのか？例えば、宇宙ステーションの建設、月面基地の建設、火星の探査なんか対象をはっきりとさせる。そして、それをいつ(When)行うのか？いかに(How)行うのか？無人飛行で行うのか、有人飛行でなければならないのか、両者を組み合わ

〈編集後期〉

神田明神の祭礼も過ぎ、爽やかな風に初夏を感じて間もなく、例年のことながら梅雨入りとなりました。毎年この時期に、日本列島近辺に前線が停滞するという大自然の営みの確かさには感心させられます。

昨年7月1日、PL法が施行されてから1年が経ちました。弊社では、各部署の責任者による全社的なPL委員会が発足し、従来行われてきた製品安全対策を見直してきました。試薬、電子工業用薬品、臨床検査薬、化成品など弊社の製品について、設計、製造、警告・表示それぞれの面における欠陥の排除を目指しています。

具体的には、設計の段階では研究開発における安全性評価、製造面では全工場でISO 9000シリーズの認証を取得することによる品質システムの確立、警告・表示については製品に貼付するラベルやカタログへの品目ごと

せて行うのがよいのか。それが5年後か、10年後なのか。それをだれが(Who)、どこで(Where)行うのか？日本には科学技術庁管轄の宇宙開発事業団と文部省の宇宙科学研究所の二本立て宇宙関連が進められてきた。しかし、この古い機構では国際的に行われるビッグプロジェクトに対応できないのが現状である。巨額の費用と時間をともなうことであるだけに順序だてて計画を推進させることが必要であろう。最後に少々理屈っぽいことを述べてしまつたが、筆者自身、最近日本の宇宙開発計画に疑問を感じている現れなのかもしれない。ご容赦ねがいたい！

参考文献

- 1) 李刊大林, 第33号, 特集「火星」, 平成2年6月1日
- 2) 宇宙生命科学入門「地球外生命をもとめて」, ニュートン 13(9) 56-83 (1993).
- 3) 小池惇平: 特集「地球外有機物」(2) 地球外環境と微生物. 日本惑星科学会誌 3(3) 193-202 (1994).
- 4) Koike, J., T.Oshima, K.Kobayashi and Y.Kawasaki: Studies in the search for life on Mars. *Advances in Space Research* 15(3) 211-214 (1995).
- 5) 小池惇平: アンドロメダ病原体が襲って来る。今、なぜ宇宙検疫の国際的基準が必要か。 *CELLS JOURNAL* 8(1) 27-32 (1995).
- 6) Koike, J., T. Oshima, K. Kobayashi and K.A. Koike: Fundamental studies concerning the planetary quarantine in space. *Advance in Space Research*. 18(2/1) 339- 344 (1996).

の危険有害性を示すシンボルマークの表示、MSDSの提供などが進められているところです。

一方、環境・安全について、規制緩和に伴う企業としての自主管理・自己責任の原則にもとづく社会的な化学製品の総合安全管理が始まりました。これは、製品の開発、製造、流通などにおける環境保護と安全確保を目的とする自主管理活動ですが、同時に化学製品を有効かつ安全に使用して頂くためでもあります。

最近、若い人達の化学離れや理科嫌いが懸念されています。化学製品については、法規制と自主管理のバランスの良い組合せによりイメージ・アップを図り、ぜひ、将来に向けて化学技術の夢を大きく育んでいきたいものです。

本格的な夏の到来までにはまだ間がありますので、時節がら皆様方にはご自愛のほど祈りあげます。（青井）



関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
編集責任者 青井 克夫 平成8年7月1日 発行