

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

技術の日立  こころをこめて70年

SUMMER 1980
VOL.23 NO.2

目次

報 文

走査電子顕微鏡の免疫電顕法……
………俵 寿太郎… 1

ガスクロマトグラフ用FTD検出
器と、ニコチン及びその代謝産
物の定量………
高橋秀夫 村中日出夫 平田妙子… 4

特殊溶媒系GPC………
向山吉之 近角信利 杉谷初雄… 8

解 説

638形日立高速液体クロマトグラフ
による、反応クロマトグラフィ
伊藤三男 塚田勝男 鴈野重威…10

トピックス

S-450LB形日立走査電子顕微鏡……12

M-003形日立質量分析計用データ
処理装置………12

日立大形スペクトログラフ、基生
研殿へ納入………13

報 文

U.D.C. 57.083.3:578.3.086.3:621.385.833.28

走査電子顕微鏡の免疫電顕法

俵 寿太郎*

1. 緒 言

走査電子顕微鏡の分解能が、微生物学就中ウイルス学領域の研究に使用し得るまでに発達して以来、免疫電顕法の開発が走査電子顕微鏡の研究にも必要となってきたことは、かつて透過電子顕微鏡による研究分野において生じた必要性の結果と同じことである。即ち、ウイルス粒子を走査電子顕微鏡で観察した場合、これをウイルス粒子なりと、同定確認するための決定的手段として、必要なものとなってくる。バクテリオファージや狂犬病ウイルス等の如く、その特徴となる独特の形態が、すでに透過電子顕微鏡で充分確認されているウイルスでは、それがそのまゝ同定の条件となり得るので必要性はないが、その他のウイルスの観察では、ウイルス粒子と類似の形態をもつ細胞構造物を、識別し同定することが絶対必要なことであり、実際には可成り困難なことである。しかし免疫学的標識法の使用が可能となるなら、これで充分なる同定条件が得られるわけで、遊離ウイルスは勿論、感染細胞から出芽中のウイルス粒子や、その他細胞表面抗原のトポグラフィに関して、多くの知見が得られることになる。

著者は、走査電顕用マーカとしては、(i)形態学的に容易に識別できる特徴的な形及び大きさを有すること、(ii)非特異的に細胞表面に吸着しない性質を有すること、(iii)化学的处理に対する安定性を有すること、(iv)多量かつ容易に精製できるものであること、以上の4点を主要点と考えて、大腸菌バクテリオファージT₄及びタバコモザイクウイルス(TMV)を用いて実験をしている。

2. マーカと抗体の結合

マーカと抗体の結合方法を概説すると、次の如くである。

2.1 物理化学的吸着法¹⁾

適当な緩衝液中で、一定量比のマーカと抗体とを混合し、抗体を結合させたマーカを分離して標識に使用するものである。つまりマーカと抗体との結合に、表面荷電等の分子間力を利用するものであり、マーカとしては合成ラテックス、金コロイド粒子がある。

2.2 HAPTEN-SANDWICH法²⁾

抗体とマーカ(高分子蛋白、ウイルス)の両者を DIAZONIUM 試薬により、それぞれにハプテンをアゾ結合させ、その両者を抗ハプテン抗体で橋渡しさせるもので、模式図1の如くである。

2.3 HYBRID 抗体法³⁾

目的の抗原に対する抗体IgG(2価)と、それを作成した同一種の動物でマーカに対する抗体IgG(2価)を作り、NISONOFF⁴⁾の方法でペプシン処理後、徐々に還元してそれぞれの抗体をFab'(1価)に分解する。その後再酸化することで、それぞれの

* 高知医科大学 副学長 医博

Fab' を S-S 結合させて、2 価の HYBRID 抗体を作製する。マーカーとしてフェリチン⁵⁾、SOUTHERN BEAN MOSAIC VIRUS⁶⁾ および TMV が応用されている。図 2 の如くである。

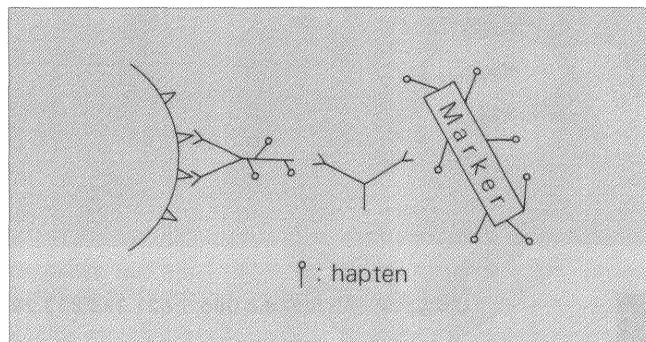


図 1 Hapten-Sandwich法の schema.

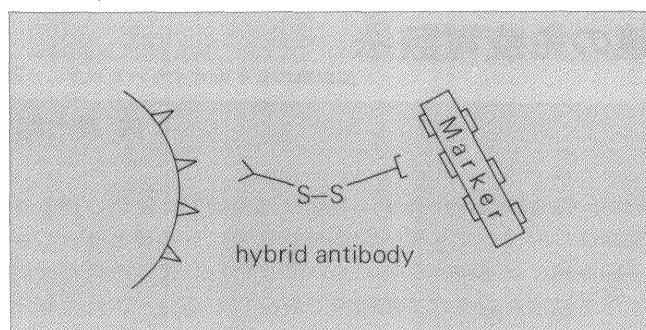


図 2 Hybrid antibody法の schema.

2.4 化学架橋法

マーカーとして高分子蛋白、ウイルス及びケイ酸ポリマを使用し、抗体との結合に二価反応試薬 BIFUNCTIONAL REAGENTS を使用するもので、グルタルアルデヒドが使われる。この架橋には一段法及び二段法があり、後者は図 3 の如くである。

以上はマーカーと抗体との結合方法により分類したものであるが、この他に標識を BRIGHTNESS の差で識別する方法として、FLUORESCIEIN の LOW IONIZATION POTENTIAL に利用する方法⁷⁾ と、PEROXDASE 標識抗体を介して重金属を沈着させる方法⁸⁾ がある。

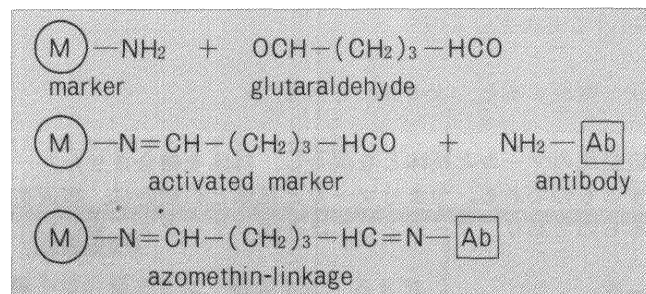


図 3 Glutaraldehyde による two-step bridge 法。

3. 応用例

応用例として著者の方法を述べることにする。

3.1 マーカーと抗体との架橋

使用する抗体としては高力価の特異的免疫血清（ヤギまたはウサギ）を用い、マーカーとしては主としてファージ T₄ を時に TMV を用いている。

精製 T₄ は高低両速の遠心沈澱法で容易に得られた。即ち 5,000g に 5 分間遠心沈澱して得られた上清を、11,000g に 30 分間遠心沈澱した沈澱として得られた。次に抗体は DEAE セルロースによるクロマトグラフィーで免疫血清から精製せられ、精製 T₄ と混ぜられた。

T₄ と山羊の IgG とを結合する先立ち、T₄ と山羊 IgG は 0.01M 磷酸緩衝液 pH7.2、4℃ で透析し、蛋白量をそれぞれ 7mg/ml 及び 35mg/ml になるようにコロジオン囊で濃縮した。その T₄ の 5ml に IgG の 0.5ml を穏かに攪拌しつつ加え、さらにグルタルアルデヒドを最終濃度 0.05% になるように加え、室温で 1 時間反応させた。その後さらにグリシンを最終濃度 0.1M になるように加えた。この混合物をさらに 15 分間室温に保ち、磷酸緩衝液 pH7.2、4℃ で一夜透析した。できた沈澱は 2,000g で除き、両者の混合物は、11,000g で 30 分間の遠心沈澱により集めた。この T₄-IgG 架橋物は磷酸緩衝液に再浮遊するだけで細胞の標識に使用した。

3.2 ヒト赤血球膜抗原の標識

ヒト及びニワトリ赤血球浮遊混合液中で、ヒト赤血球標識を行なうと、直接法の場合には洗浄血球と T₄-IgG (ANTI-HUMAN RBC, 1mg/ml) とを、間接法の場合には抗ヒト赤血球ヤギ IgG 処理血球と T₄-IgG (ANTI-GOAT IgG) とを、それぞれ 37℃、30 分間反応させて標識を行なっている。図 4 はヒト及びニワトリ赤血球浮遊混液における、ヒト赤血球膜抗原の T₄-IgG 標識を示す。即ち円形のヒト赤血球は T₄-IgG で標識されているが、楕円形のニワトリ赤血球への非特異的吸着はみられない。

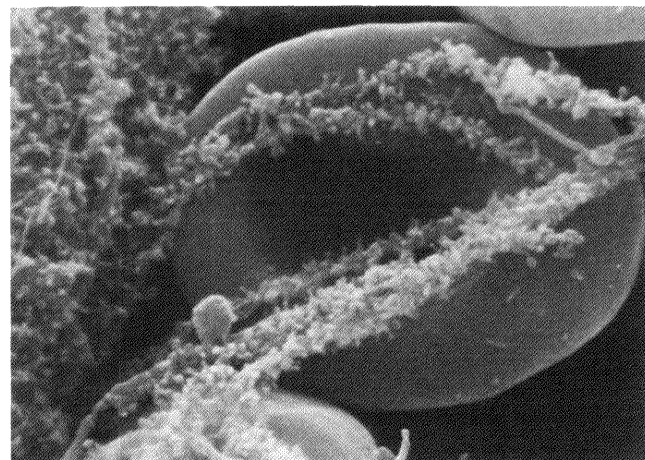


図 4 ヒト及びニワトリ赤血球浮遊混液におけるヒト赤血球膜抗原の T₄-IgG で標識。(×10,000)
円形のヒト赤血球は T₄-IgG で標識されているが、楕円形のニワトリ赤血球には非特異的吸着はみられない。

3.3 ウイルス粒子の標識

ヒト赤血球(O)型にインフルエンザウイルスを吸着させ、前固定を行なう。即ち 1% glutal-aldehyde (PBS) を 4℃、で 10 分間反応させ、PBS で洗浄し、0.15 M glycine で 10 分間処理し、再び PBS で洗浄する。次に、goat-antiinfluenza serum を 37℃ 10 分間反応させ、洗浄後 T₄-IgG をそれぞれ 37℃ 30 分間反応させて標識する。図 5 はヒト赤血球に吸着したインフルエンザウイルス粒子に T₄-IgG を反応させた結果、1 個のインフルエンザウイルス粒子にそれぞれ数個

のT₄が附着していることを示す。

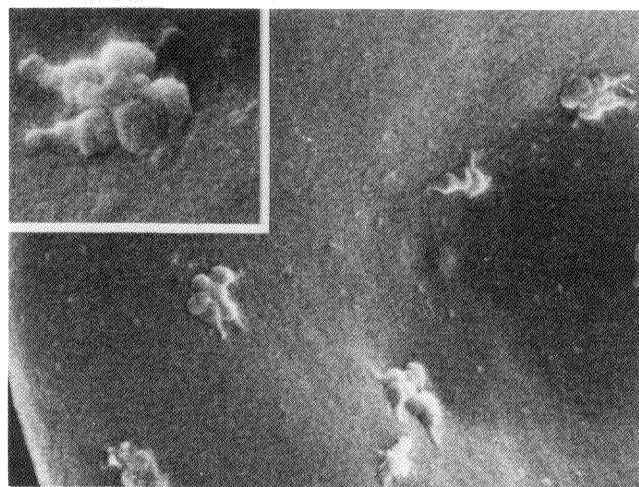


図5 ヒト赤血球表面に吸着したインフルエンザウイルス粒子に、数個のT₄がそれぞれ附着的しているを示す。(×28,000×63,000)

3.4 ウイルス感染細胞の標識

インフルエンザウイルス感染細胞に血球吸着反応を行なった後前固定し、間接法で標識すると、細胞表面にできたウイルス特異抗原 hemagglutinin に赤血球が吸着している像がみられる。図6はインフルエンザウイルス感染猿腎細胞後期のT₄-IgG標識像で、細胞全表面にウイルス抗原の分布していることがわかり、血球吸着には microvilli 及び filipodia が関係していることがわかる。

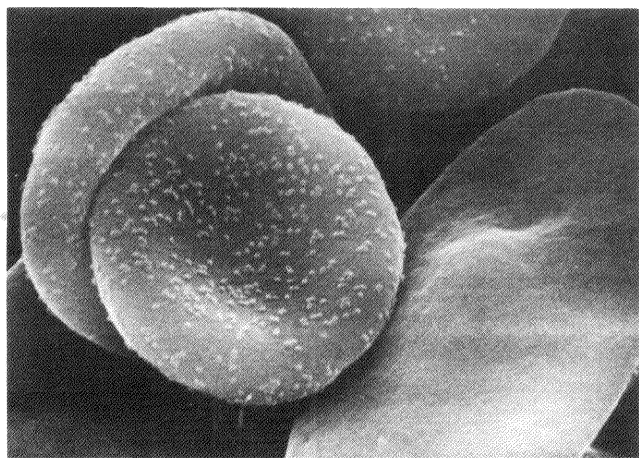


図6 インフルエンザ感染細胞でのT₄-IgG標識。
感染の末期では細胞全表面がウイルス抗原におきかえられていることと、血球吸着に filipodia も関与していることがわかる。
(×15,000)

4. 結 語

走査電子顕微鏡によるウイルス粒子の同定抗原の感染細胞表面における分布又は局在を観察するために、いわゆる標識抗体法の応用が試みられるようになった。

標識法は1972年に Lo Buglio⁹⁾が、従来血清学の研究領域に広く用いられていたポリスチレンラテックス粒子(PSL)を、マーカーとした標識法の報告が初めである。しかしPSLは粒子表面が疎水性であるため、目的とする細胞の表面において非特異的重積傾向をもつため、1974年に Molday¹⁰⁾はアクリル係ラテックスを新たに合成し、マーカーとした。以後この研究は急速に進展し、マーカーには球形粒子よりも

特徴的形態を有するTMVや大腸菌バクテリオファージT₄等のウイルス粒子が、利用されるようになってともに、走査電子顕微鏡の分解能の開発に伴い、ヘモシアニン、フェリチン等の微小マーカーも使用されるようになってきた。

従って現在では名種のマーカーと標識法の選択は、各研究者が実験の目的により、それぞれ思考を加えながら用いている。

参考文献

- 1) Oreskes, I. and Singer, J. M.: Influence of pH, ionic strength and human gamma globulin concentration stability of polystyrene latex particle suspensions. Proc. Soc. Exp. Biol. Jnd Med., 115, 753-755, 1964
- 2) Nemanic, M.K., Carter, D.P., Pitelka, D.R. and Wofsy, L.: Hapten-sandwich labeling. II Immunosppecific attachment of cell surface markers suitable for scanning electron microscopy. J. Cell Biol., 64, 311-321, 1975
- 3) Hämmerling, U., Polliack, A., Lampen, N., Sabety, M. and DeHarven, E.: Scanning electron microscopy of tobacco mosaic virus-labeled lymphocyte surface antigens. J. Exp. Med., 141, 518-523, 1975
- 4) Nisonoff, A. and Rinders, M. M.: Recombination of a mixture of univalent antibody fragments of different specificity. Arch. Biochem. Biophys., 93, 460-462, 1961
- 5) Hämmerling, U., Aoki, T., DeHaven, E., Boyse, E. A. and Old, L. J.: Use of hybrid antibody with anti-rG and anti-ferritin specificities in locating cell surface antigens by electron microscopy. J. Exp-Med., 128, 1461-1473, 1968
- 6) Hämmerling, U., Aoki, T., Wood, H. A., Old, L. J., Boyse, E. A. and DeHarven, E.: New visual markers of antibody for electron microscopy. Nature, 223, 1158-1159, 1969
- 7) Springer, E., Riggs, J. L. and Hackett, A. J.: Viral identification by scanning electron microscopy of preparations stained with fluorescein-labeled antibody. J. Virol., 14, 1623-1626, 1974
- 8) Männweiler, K. and Rutter, G.: Comparative SEM and TEM studies on normal and virus-infected culture cells.
(Attempts to label virusspecific surface antigens)
II TRI/Scanning Electron Microscopy/1973, 513-520, 1973
- 9) LoBuglis, A. F., Rinehart, J. T. and Balcerzak, S. P.: A new immunologic marker for scanning electron microscopy.
II TRI/Scanning Electron Microscopy/1972, 313-320, 1972
- 10) Molday, S.R., Dreyer, W.J., Renbaum, A. and Yen, S.P.S.: New immunolatex spheres: Visual markers of antigens on lymphocytes for scanning electron microscopy. J. Cell Biol., 64, 75-88, 1975



ガスクロマトグラフ用FTD検知器と、ニコチン及びその代謝産物の定量

高橋 秀夫* 村中 日出夫** 玉田 妙子***

1. 緒 言

タバコの主成分であるニコチンは喫煙時に肺等から吸収されて血液中に入り、コチニンに代謝されるといわれているが、その詳細な代謝過程については未解決の部分が多い。

体液中のニコチン及びその代謝産物を測定することはニコチンの代謝研究において重要な役割をはたすことになる。村中らは初期の段階において、比色法、薄層クロマトグラフ法等でニコチンの定量分析を試み、ある程度成功をおさめたが、体液中濃度等の微量測定には不十分であった。次に放射免疫測定法によりニコチン、コチニンの測定法を開発^{1),2)}し、ニコチン微量濃度定量の測定に日本で初めて成功した。しかしこの方法は感度、特異性の点で優れているが、放射性同位元素を使用するため、取り扱いに不便があり、一般に広く使用するには不向きである。

一方、1964年に Karmen, Giuffrida 等^{3),4)}により、チッ素やリン含有化合物に特異的に、しかも高感度で検出できるガスクロマトグラフ用検知器が発明され、さらに1979年に著者⁵⁾らによって Karmen らの方式を改良した高感度で、再現性の高い FTD 検出器が開発されたので、さっそくニコチンの測定に応用を試みた。以下、その結果得られた知見について述べる^{6),7)}。

2.1 試 薬

標準物質：ニコチン、コチニン、ノルニコチン（日本専売公社中央研究所）。カフェイン（GR、半井化学）。

内部標準物質：キノリン、5-アミノキノリン（GR、半井化学）。

有機溶媒：メタノール、ヘプタン、アセトン（スペクトル用特製試薬、半井化学、メルク）。無水エチルエーテル（GR、半井化学）。

2.2 器 具

硝子器具はすべてアルカリ性洗剤に浸した後、純水（Milli Q System）にて充分洗浄し、使用前にアセトンにて洗浄、乾燥させた。サンブラ用チップ、マイクロディスペンサ用硝子毛細管はエタノールにて洗浄後乾燥させた。

2.3 ガスクロマトグラフ

使用したガスクロマトグラフは日立 073 形ガスクロマトグラフであり、検知器は日立 FTD 検知器を使用した。分離カラム、ガス類は次のものを使用した。カラム：長さ 2 m、内径 3 mm、硝子カラムを使用した。充てん剤は 6.5% PEG-20M + 6.0% KOH on Chromosorb W-AW、及び 10% Apiezon L + 10% KOH on Chromosorb W-AW を使用した。

* 日立製作所 計測器事業部 理化学機器部 病院長主任

** 日本専売公社 京都病院 病院長
京都大学 医学部 第2内科 非常勤講師

*** 日本専売公社 京都病院 検査科

ガス類： キャリアガス—高純度ヘリウム（製鉄化学）

水素—水素発生装置（STEC OPGU-70A）

3. 検知器について

次に Karmen 形検知器と日立 FTD 検知器について簡単に説明する。

3.1 Karmen 形検知器

Karmen 形検知器の原理を図 1 に示す。これは通常の FID 検知器のノズルに直径約 5 mm、厚さ約 3 mm で内径 1.5 mm 程度の穴を持つアルカリ結晶をのせ、このアルカリ結晶の穴にノズルの役をさせて、そこに FID と同様、炎を形成させる方式である。アルカリ結晶としては KBr、KCl、RbBr 等のアルカリ金属、あるいはアルカリ土類金属の塩が有効であるが、取扱い等の問題で一般には KBr を用いる例が多い。

H₂ 及び Air 流量は通常の FID とは多少異なる。FID は H₂ = 20 ~ 60 ml/min, Air = 500 ~ 1,000 ml/min で使用される。しかし Karmen 形 FTD の場合は H₂ = 10 ~ 20 ml/min, Air = 100 ~ 500 ml/min と、FID に比べて少な目で使用しなければ高感度で選択性の高い性能は得られない。又、コレクタとノズル間の距離も通常の FID よりは離して（2 ~ 7 mm）使用した方が良い結果が得られる。

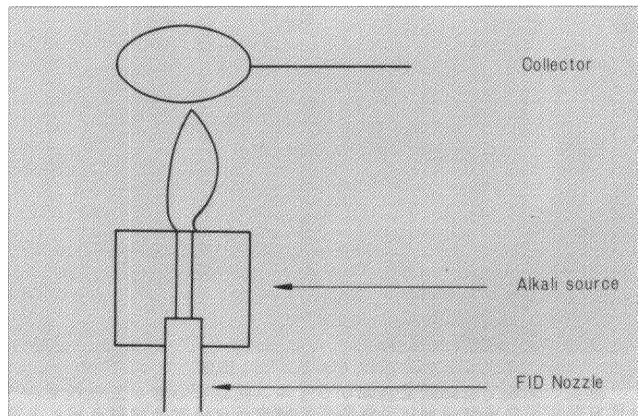


図 1 Karmen 形検出器の原理

3.2 日立 FTD 検知器

前述 Karmen 形 FTD は炎の熱でアルカリ結晶を気化し炎の中でイオン化させる方式をとるため、時々刻々アルカリ結晶は消費される。そこで穴の径、コレクタ—ノズル間の距離も時々刻々変化することになり、性能も急激に変化するという欠点がある。

日立 FTD はこのような欠点を改良したものであり、図 2 のような構造になっている。

ノズル上方 1 ~ 2 mm の位置にアルカリソースを配置し、アルカリソースを電氣的に 700 °C 前後に加熱する。

H₂ 及び Air の流量は上述 Karmen 方式よりもなお一層少

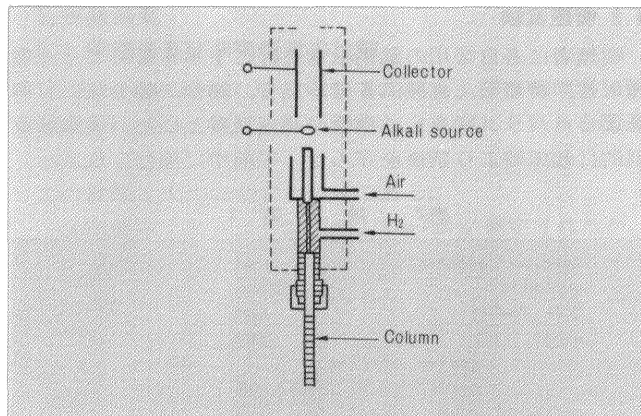


図2 日立FTD検出器の構造

量で、 $H_2=1\sim 10\text{ml/min}$ 、 $\text{Air}=50\sim 150\text{ml/min}$ の時に最良の結果が得られ、ノズル上方ではいわゆるフレイムを形成するのではなく、フレイムレスの状態で酸化反応(燃焼)が進行しているものと思われる。アルカリソースは前述のKarmen方式とは異なり、炎で気化しアルカリ源を供給するのではなく、単に電氣的に加熱されているだけであるので、アルカリソース自体は消費されない。従って、アルカリ量の時間的变化もなく、コレクターノズル間の距離も不変であり、常に安定した性能が得られることになる。これをKolb等は図3のような説明をしている。⁸⁾ アルカリソース表面のRbが熱で活性化され、それが試料中のCNをイオン化する。そして反応が終ったRbはまたアルカリソースにもどる。この説明でも解るようにアルカリはその表面で触媒的作用を起して試料をイオン化するだけでアルカリソースそれ自体は全く消費されることはない。

さてこの方式を採用している日立FTDの性能は表1のようになる。⁹⁾ これからわかるように本検知器はチッ素及び燐に特に高感度で、選択性も高い。我々が測定しようとしている体液中には多種の物質が含まれていて、しかも窒素化合物であるニコチンは大変微量成分であるので、とりわけ、この検知器で測定することは有効であると思われる。

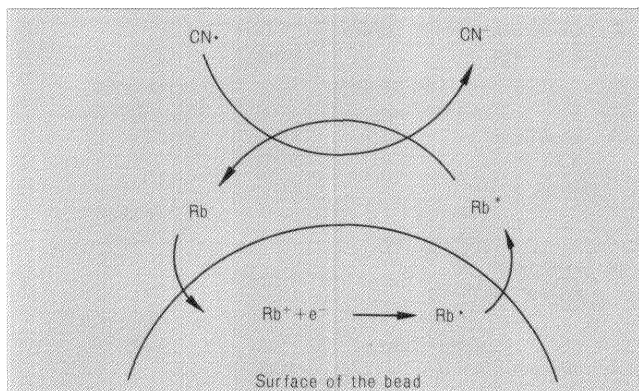


図3 FTDの反応構造

表1 日立FTDの性能

項目	化合物	チッ素化合物	リン化合物
検出限界		$1.0 \times 10^{-13}\text{g/sec}$	$2.5 \times 10^{-14}\text{g/sec}$
選択性		6.0×10^4	8.6×10^4
直線性		5×10^4	2×10^5

4. 測定方法

内部標準物質としてキノリン及び5-アミノキノリンの2種類を使用した。

キノリンはニコチンの単独測定の時に使用し、一方、コチニン等との同時測定には5-アミノキノリンを内部標準物質とした。

4.1 分離カラムの検討

ニコチンのガスクロマトグラフによる分析ではカラム液相はpolyethylene glycol又はApiezon Lを使用したものが多い。そこで我々は、標準サンプルを作り、それぞれのカラムで追試し図4の結果を得た。

図4から明白なようにPEGではニコチン→キノリン。Apiezon ではキノリン→ニコチンとなり両カラムにおいてニコチン及びキノリンの溶出順序が逆転してしまう。標準サンプルで測定するかぎり、溶出順序が変わる他は特に問題はない。しかし別途、血漿試料を用いてエーテルで抽出し、PEGカラムで測定するとどのような場合でもRetention timeが約6分の所に未知物質の巨大ピークが出現し、クロマトグラムを混乱させることがわかった。この不明ピークを究明するためにGC-MS等で検索したが残念ながら本態を明らかにすることはできなかった。しかしApiezonではこの不明ピークは現われないので我々は本実験においては以後、Apiezon Lカラムを使用することにした。又、実試料ではニコチン以外に代謝産物のコチニンやお茶類等の飲食に起因すると思われるカフェインも高感度で検出される。これら2種の物質は溶出時間が遅く、コチニンで10分、カフェインで12分を要する。そこで溶出時間を短縮する意味で、日立FTDの昇温分析を行った。その結果が図5である。シングルカラムで昇温したにもかかわらず、ドリフト、ノイズレベルも少なく、しかも短時間に再現よく測定できることがわかった。

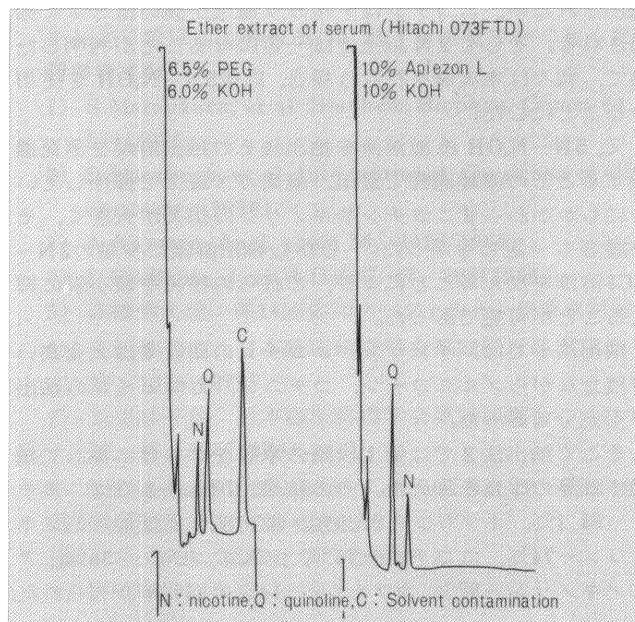


図4 PEG及びApiezonカラムによる比較

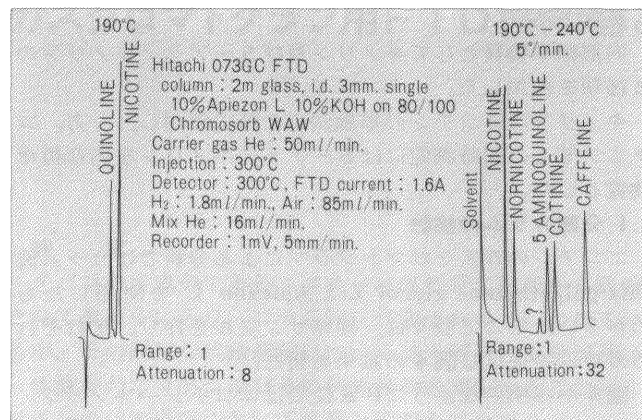


図5 昇温分析のクロマトグラム

4.2 抽出法の検討^{7), 10)}

我々は測定対象物質により2種類の抽出法を検討した。それぞれを表2, 3に示す。すなわち、ニコチンのみ単独で測定する時は表2の抽出法1を、又、ニコチンとコチニン在同一検体で同時測定する場合は表3の抽出法2を採用した。ニコチン単独分析の場合は多数検体を短時間で処理することを目的として考えたもので、抽出法2はニコチン、コチニンはもとよりカフェイン、ノルニコチンをも同時に分析することを目的とした。

〈抽出時のアルカリ濃度〉

両法に共通している重要な過程は抽出時のアルカリ濃度である。

ニコチン、コチニンは共に塩基性アミンであり、塩酸塩の形にすれば安定であるが、アルカリ性溶液中では不安定であることは当然である。しかし有機溶媒で抽出するには残念ながら、alkali mediumでのみしか抽出されない。例えば純水にニコチンとガスクロ測定時の内部標準であるキノリンのそれぞれ一定量を添加して種々のアルカリ濃度でエーテル抽出を行なうと、キノリンは常にほぼ一定の割合で抽出されるが、ニコチンはアルカリ濃度が高いほどよく抽出される。そして2N以上では一定になることが判明したので、我々は本実験を行なう場合、以後5N-NaOHを使用することにした。

又、5N-NaOH添加溶液を抽出後その抽出溶媒を蒸発濃縮するとこの濃縮過程で室温、窒素ガス流下で操作しているにもかかわらずニコチンやキノリンの損失が大きく、その割合も一定しなかった。しかし抽出溶媒に少量の2N-HCl溶液を加えることにより、これらの損失を最小限に抑えることが可能であった。

抽出法1では、キノリン、ニコチンの回収率は大変高いが残念ながらノルニコチン、コチニン、カフェインの抽出が不十分であった。

そこで抽出法2では第1段階の水層をクロロホルムで抽出する等の改良を加えた。その結果、抽出法1ではニコチン-94.1%、キノリン-97.9%。抽出法2では最終的にキノリン-74%、ニコチン-76%、ノルニコチン-38%、アミノキノリン-97%、カフェイン-14%の回収率が得られた。

4.3 喫煙実験

喫煙者に各自常用の銘柄紙巻たばこ1本を常のごとく喫煙させ、喫煙前、直後、5分、15分、30分、60分後に肘静脈よりヘパリン採血し、血漿を測定試料とした。実験は原則的に起床時より禁煙を守らせ、午前中に施行した。

表2. 抽出法 1

1. specimen(plasma)	1 ml.
quinoline	100ng.
5 N NaOH	1 ml.
ether	3 ml. twice
	vortex, shaking 30min.
	centrifuge at 3000 rpm. 5min.
2. combined ether extracts	6 ml.
2 N HCl	100 μ l.
	vortex and centrifuge 1min. and 5min.
	evaporate ether layer to 200 or 500 μ l. under N gas
	vortex again 1min.
	centrifuge 5min.
3. acid layer	100 μ l. (ether discarded)
ether	500 μ l.
	wash by tapping and centrifuge
	discard and evaporate ether completely
4. acid remaining	100 μ l. in small tube
5 N NaOH	300 μ l.
n-heptan 1 : ether 1 (isopropylether)	50 μ l. 50 μ l.
	vortex 1min.
	centrifuge at 1000 rpm. 10sec.
5. solvent layer	50 μ l. in another small
6. 5 μ l. of extract onto GC.	

表3. 抽出法 2

1. specimen(plasma)	1 ml.
5-aminoquinoline	100ng.
5 N NaOH	1 ml.
ether	4 ml.
	vortex, shaking 15min.
	centrifuge at 3000 rpm. 5min.
1. water layer	
chloroform	2 ml.
	vortex, shaking 15min.
	centrifuge 5min.
2. combined solvent layers	6 ml.
2 N HCl	100 μ l.
	vortex, shaking 15min.
	centrifuge 5min.
3. acid layer	100 μ l.
5 N NaCl	300 μ l.
ethyl acetate	200 μ l.
	vortex 10sec.
	centrifuge 3min.
3. acid layer	
dichlor methane	100 μ l.
	vortex 10sec.
	centrifuge 3min.
4. combined solvent layers	300 μ l.
	evaporate and concentrate to 2-3 μ l. under N ₂ gas
5. remaining	
acetone	50 μ l.
6. 5 μ l. of extract onto GC.	

5. 実験結果

5.1 喫煙者及び非喫煙者の比較

抽出法2を使用して、喫煙者20例および非喫煙者10例の測定を行った。それらの代表的なクロマトグラムを図6に示す。

この結果は次表に示すとおりである。

非喫煙者でもニコチンは約2.5ng/mlが測定されたが、コチニンは全例において検出されなかった。又、純水を検体とした試薬ブランクテストをした結果でもニコチン2~3ng/mlが認められたが、コチニンは全く検出されなかった。

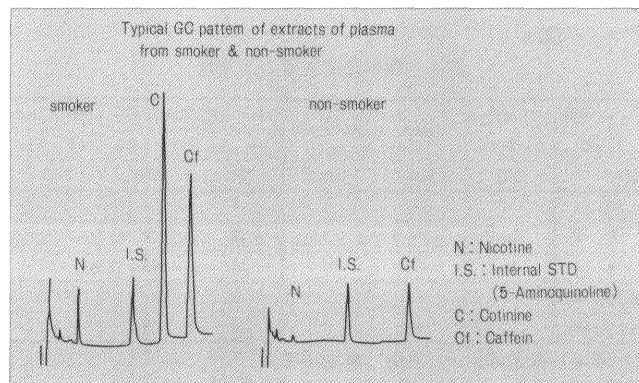


図6 抽出法2による代表的なクロマトグラム

表4 喫煙前の喫煙者、非喫煙者のニコチン、コチニンの血漿中濃度

	ニコチン濃度	コチニン濃度
喫煙者	14.45 ± 8.68 ng/ml	145.3 ± 138.23 ng/ml
非喫煙者	2.45 ± 2.93 ng/ml	0

5.2 喫煙時のニコチン、コチニン濃度と時間との関係

血中のニコチン、コチニン濃度の時間変化を測定する目的で、喫煙習慣のある男子有志8名について喫煙実験を行った。代表的なクロマトグラムの例を図7に、測定結果を図8に示す。

ニコチンは喫煙直後にほとんどの例で上昇するが、5例で喫煙直後、2例で15分後に最高値に達した。以後はいずれの例でも急速に減少し1時間後ほぼ実験前値に戻った。一方コチニンではニコチンに比して上昇、下降ともゆるやかであった。

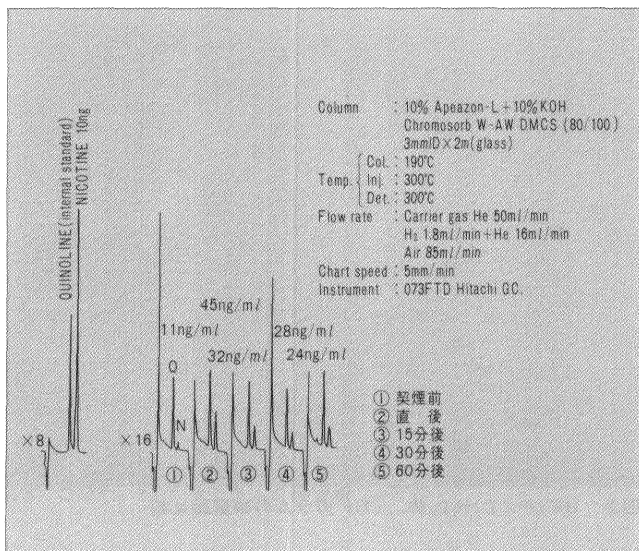


図7 ニコチン濃度と時間との関係を測定した代表的なクロマトグラム

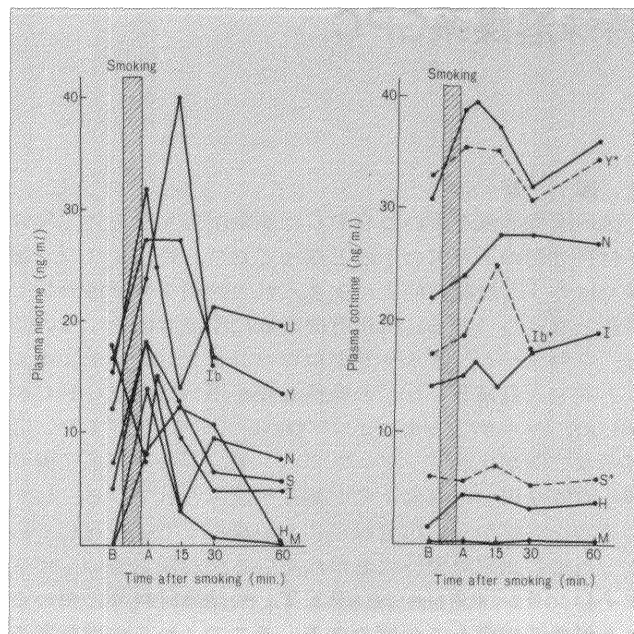


図8 ニコチン、コチニン濃度と時間との関係

6. 結 言

- (1) 抽出操作において5N-NaOHを加える等の工夫によりニコチン、コチニンの回収率が大幅に改善され、再現性も高くなった。
- (2) 前処理(抽出法)等の多少の問題点があるが、体液中のニコチン、コチニンの測定において日立FTD検出器は満足すべき結果が得られる測定手段であることがわかった。
- (3) 喫煙者の喫煙前の血漿中のニコチンは、 $14.5 \pm 8.68 \text{ ng/ml}$ でコチニンは $145.3 \pm 138.23 \text{ ng/ml}$ であった。
- (4) 非喫煙者では $2.5 \pm 2.93 \text{ ng/ml}$ のニコチンが測定された。しかしコチニンは測定されなかった。
- (5) 喫煙者では常用銘柄シガレット1本喫煙により、ニコチン濃度は喫煙直後から15分間で最高値に達し、以後急速に減少して60分でほぼ前値に戻った。コチニン濃度はニコチンより緩徐な上昇を示し、低下もゆるやかであった。

参考文献

- 1) S.Matsukura, et al Biochem. Biophys. Comm 64, 574(1975)
- 2) S.Matskura, et al International Congress of clinical chemistry(1978)
- 3) A.Karmen Anal. chem 36, 1416(1964)
- 4) L.Giuffrida J. of A.O.A.C. 47, 293(1964)
- 5) 高橋秀夫他 第14回応用スペクトロメトリ東京討論会
- 6) 玉田妙子他 日本臨床病理学会第22回近畿支部総会 27, 1018(1979)
- 7) 玉田妙子他 日本臨床病理学会第26回総会 27, 補. 434(1979)
- 8) B.Kolb and J.Bischoff J.chrom. Sci 12, 625(1974)
- 9) 日立製作所 FTD検出器カタログ
- 10) 村中, 玉田 臨床化学 投稿中

特殊溶媒系GPC

向山 吉之* 近角 信利* 杉谷 初雄*

1. 緒 言

汎用有機溶媒を用いたGPCは測定が容易なため、高分子材料分析の不可欠の手段となっており、特にオリゴマ領域ではカラム性能の向上に支えられて詳細な分子種分析も可能となりつつある。汎用有機溶媒に不溶な樹脂についても、クレゾール、オルトジクロロベンゼン、ジメチルホルムアミド(DMF)などの極性溶媒を用いた高温GPCをはじめ、ヘキサフルオロイソプロパノール(HFIP)溶媒系及び四塩化エタン/ニトロベンゼン混合溶媒系²⁾等の特殊溶媒を用いた常温下での測定が試みられている。しかし適当な溶媒が見い出せないことや高温下では変質してしまうために測定対象外におかれている樹脂類も多い。ポリエチレンテレフタレート(PET)や絶縁材料等に用いられる耐熱性樹脂もこの例である。そこでこれらの樹脂類を対象にHFIP/クロロホルム(CHCl₃)混合溶媒系カラム及びDMF/テトラヒドロフラン(THF)混合溶媒系カラムを試作し、常温付近でのGPCを試みたところ有用な知見が得られたので以下報告する。

2. 実験方法

2.1 試 料

PETは重合度の異なるものを用いた。耐熱性樹脂としては、市販品のトリス(2-ヒドロキシエチル)イソシアヌレート変性ポリエステルイミド樹脂(EI)ポリアミドイミド樹脂(AI)及びポリアミド酸系樹脂(PI)を用

2.2 GPC

試作した排除限界(Mlim) 5×10^3 , 2×10^4 , 7×10^4 , 5×10^5 の各スチレン-ジニルベンゼン系ゲルを用いてHFIP/CHCl₃系(混合容積比1:1及び1:9)の8mmφ×50cmステンレスカラム及びDMF/THF系(混合容積比1:1)の8mmφ×30cmカラムを作製した。比較用としてTHF溶媒及びDMF溶媒でも同様なカラムを調製した。装置は日立635A形HLCを用い、検出器としてはUV(254nm)とRIを使用した。

3. 結果と考察

3.1 試料の溶解性

対象試料の溶解度試験結果を表1に示した。EI, AI, PET共にHFIP/CHCl₃系溶媒(1:1)に可溶であるがPIは不溶である。しかしPIはDMF/THF系溶媒(1:1)に可溶である。さらにPETは重合度によって溶解度が異なる。これらの結果から移動相として前述した各種混合溶媒系を選定し、専用カラムを調製した。

3.2 GPC

HFIP/CHCl₃系、THF系各カラムでのビスフェノール型エポキシ樹脂(Ep)のゲルクロマトグラムを図1に示した。ポリスチレン(PS)、ポリエステル樹脂(ER)及びEpについての検量線比較結果を図2に示した。THF系に比べてHFIP/CHCl₃系ではEp及びERの溶出が早ま

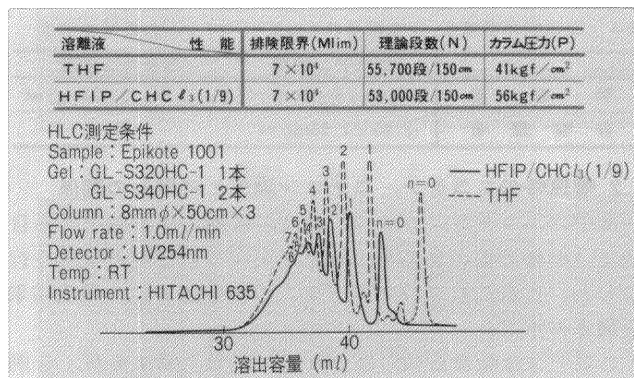
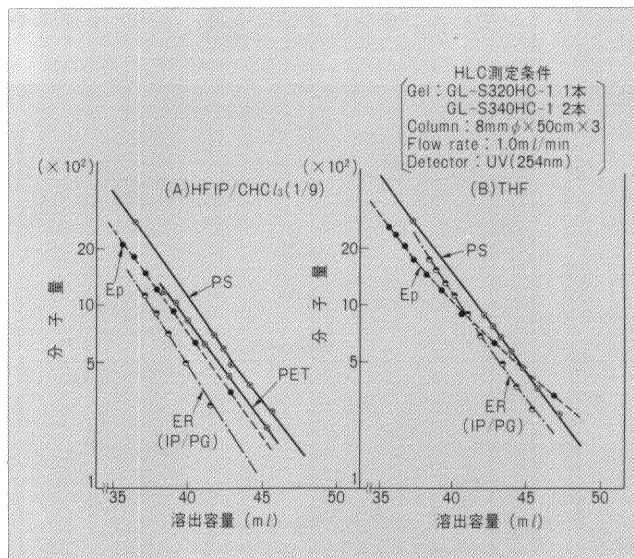
ること、検量線が直線性を示すことなどがわかる。なお理論段数や圧力にも大差はなかった。HFIP/CHCl₃系カラム(1:9)を用いて測定したPETオリゴマのゲルクロマトグラムを図3に示した。特にn=7以下では良好な分離状態を示した。高重合度のPETについても、HFIP/CHCl₃系カラム(1:1)を用いることにより分析できた(図4)。

表1 耐熱性樹脂等の溶解性

溶媒 温度	THF CHCl ₃	DMF	クレゾール	HFIP/CHCl ₃		DMF/THF (1:1)
				(1:1)	(1:9)	
試料	25℃	60℃	130℃	25℃	25℃	25℃
PI	×	○	×	×	×	○
EI	×	○	○	○	×	○
AI	×	○	×	○	×	○
PET(Pn<52)	×	×	○	○	○	×
PET(Pn150)	×	×	○	○	×	×

○ 可溶(測定可), × 不溶(測定不可)

濃度: DMF系-1.0% (W/V), その他-0.2% (W/V)


 図1 HFIP/CHCl₃系、THF系カラムの性能比較

 図2 HFIP/CHCl₃系、THF系カラムの検量線比較

*日立化成工業(株) 茨城研究所

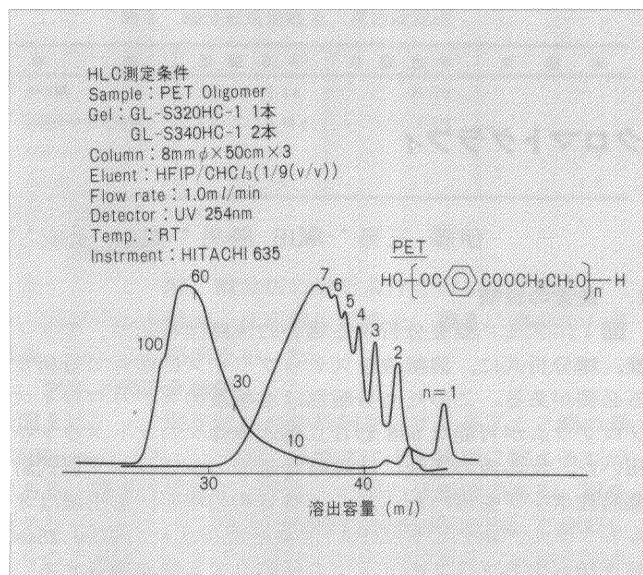
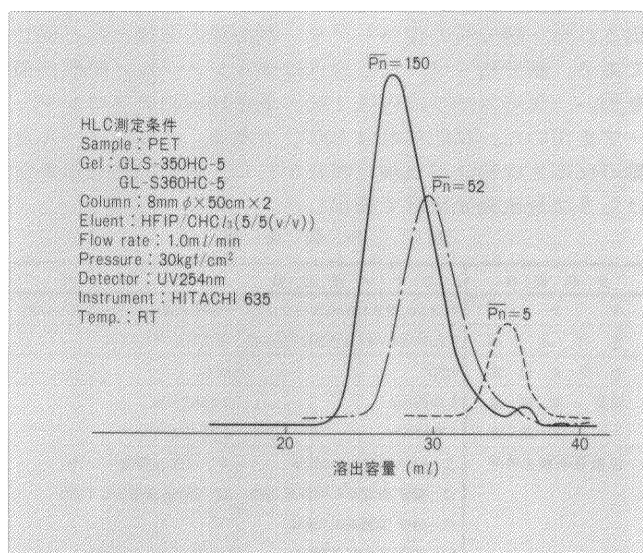
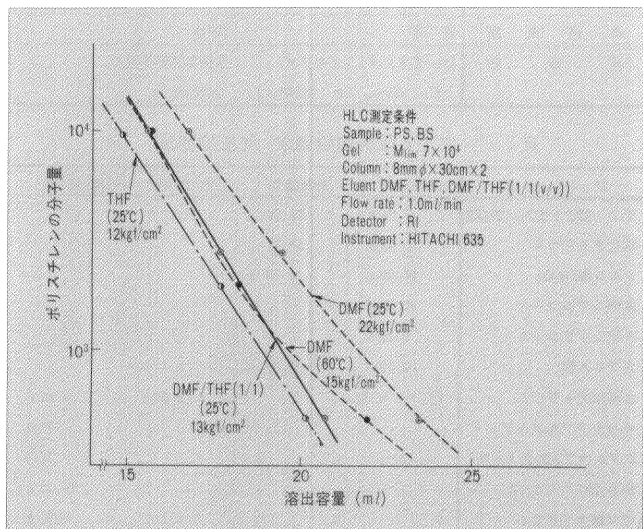

 図3 HFIP/CHCl₃系カラムによるPETオリゴマのGPCパターン

 図4 HFIP/CHCl₃系カラムによるPETのGPCパターン


図5 DMF/THF系カラムの検査線 (PS)

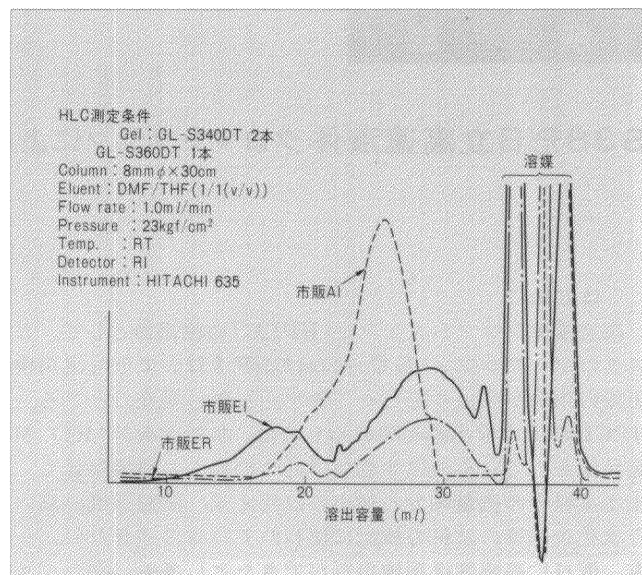


図6 DMF/THF系カラムによる各種耐熱性樹脂のGPCパターン

PSを試料とした場合のDMF単独系カラムとDMF/THF系カラムについて比較した結果を図5に示した。DMF/THF系ではDMF単独系に比較して常温でも圧力が低く、低分子量域でも直線性を示すことがわかった。DMF/THF系カラム(1:1)で測定した耐熱性樹脂のゲルクロマトグラムを図6に示した。耐熱性樹脂のキャラクタリゼーションを行なう上で有望な知見を与えるものと期待される。

4. 結 言

Mn, Mw等の算出法や比感度の問題などは今後の課題であるが、以上の検討結果から、適当な溶媒系を選び、専用カラムを用いることによって、今まで測定困難な試料についても常温付近でのGPC領域の拡大が可能とわかった。

本研究に際し、PETオリゴマの提供と測定条件にご助言いただいた日立製作所産業プラント技術本部の方々に感謝します。

参考文献

- 1) E. L. Slagowski, R. C. Gebauer, G. J. Gaesser: J. Appl. polym. Sci., 21, 2293(1977).
- 2) E. E. Paschke, B. A. Bidlingmeyer, J. G. Bergmann: J. polym. Sci, polym. chem. Ed., 15, 983(1977).

解説

638形日立高速液体クロマトグラフによる反応クロマトグラフィ

伊藤 三男* 塚田 勝男* 鷹野 重威**

1. はじめに

高速液体クロマトグラフィ(HPLC)の検出器として、ガスクロマトグラフィ(GC)におけるFIDのような汎用検出器の出現が久しく待たれてきた。しかし現在のところ、HPLCの汎用検出器と呼べるものは、示差屈折計(RI)が商品化されているのにすぎない。このRIも感度が低く、生体試料等の微量成分の検出には使えず、試料濃度の高い合成化合物等の試料の検出に使われているのにすぎない。一方、仮りに高感度汎用検出器ができたとしても、グラジエント溶離法を適用しにくいという難点が残し、GCのFIDのように簡単には使用されにくい。HPLCの検出器の行き詰まりを打開する一つの方法として、カラムからの溶出液に反応試薬を加え発色させ、可視域の吸収或いはけい光で検出する、いわゆる反応クロマトグラフィと呼ばれる方法が注目されている。この方法は、反応試薬と反応条件を変えれば種々の化合物の検出ができる点で汎用検出法に近いものである。又、感度も高い。更にこの方法の特長として、検出の特異性が高く特定の官能基を持った目的成分のみ検出されることである。このように分析対象外の成分をマスクすることができるので、生体試料のような多種類の成分から構成されている試料を分析する場合、特に有効である。ここでは638形日立高速液体クロマトグラフを用い、反応クロマトグラフィにより、アミノ酸、糖を分析した例について紹介する。

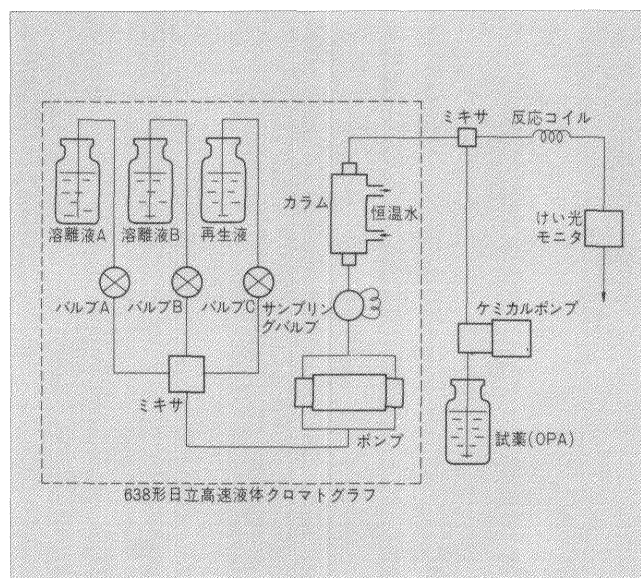


図1 アミノ酸分析用流路図

2. 装置の説明

図1にアミノ酸を分析する場合の流路図を示す。アミノ酸、糖分析共に、溶離液をステップワイスに変えて分析する必要がある。このため分離部は溶離液のステップワイスプログラムが可能な638形日立高速液体クロマトグラフを用いた。反応液の送液には硫酸も送液できるレシプロ式耐薬品性ポンプを用いた。アミノ酸分析の場合、溶出液はオルトフタルアルデヒド(OPA)溶液と混合され、内径0.25mm、長さ10mのテフロンチューブの反応コイル内を通過する。ここで反応が起こりアミノ酸はけい光体になる。反応温度は室温である。反応生成物はフィルタ式けい光モニタで検出される。糖分析の流路もアミノ酸の場合とほとんど同じである。糖分析では、反応液にはオルシノール/硫酸溶液を用い、反応コイルは内径1mm、長さ10mのテフロンチューブを用いた。反応温度は100℃である。オルシノールと糖の反応生成物は可視域に吸収があり、耐薬品性セルを付けた多波長流動光度計で検出した。

表1. 分析条件

分析条件	アミノ酸分析	糖分析
カラム	内径4mm、長さ150mm(ステンレス)	内径4mm、長さ150mm(ステンレス)
充てん剤	日立カラムイオン交換樹脂 2619-F	日立ゲル 3013-N
カラム温度	60℃	60℃
流量 溶離液	0.3ml/min	0.35ml/min
反応液	1.0ml/min	0.45ml/min
溶離液切換え時間	0-12分 溶離液A 100% 12-32分 溶離液A 80%, B 20% 32-59分 溶離液B 100% 59-69分 再生液 100%	0-22分 溶離液A 100% 22-100分 溶離液B 100%
反応コイル	内径0.25mm、長さ10m(テフロン)	内径1mm、長さ10m(テフロン)
反応温度	室温	100℃
検出器	けい光モニタ(フィルタ式) (Ex: 360nm, Em: 440nm以上)	多波長流動光度計 (420nm)

表2. アミノ酸析用溶離液、反応液組成

試薬	溶離液A*	溶離液B*	再生液*	反応液*
クエン酸ナトリウム(2H ₂ O)	7.74 g	26.67 g	—	—
塩化ナトリウム	7.07 g	54.35 g	—	—
クエン酸(H ₂ O)	20.00 g	6.10 g	—	—
エチルアルコール	90.00ml	—	—	—
チオジグリコール	5.00ml	—	—	—
カプリル酸	0.10ml	0.10 ml	0.10ml	—
水酸化ナトリウム	—	—	8.00 g	3.00 g
オルトフタルアルデヒド	—	—	—	161mg
2-メルカプトエタノール	—	—	—	80μl
Brij-35	—	—	—	19.05 g
ホウ酸ナトリウム	—	—	—	1.00 g

* 蒸溜水に溶解し全量1ℓにする。

* 日立製作所 那珂工場 光学装置設計部

** 日立製作所 那珂工場 光学装置設計部 副技師長 理博

表3 糖分析用溶離液、反応液組成

試薬	溶離液 A*	溶離液 B*	反応液
ホウ酸	12.4 g	31.0 g	—
水酸化ナトリウム	0.44 g	7.2 g	—
オルシノール	—	—	1 g
硫酸	—	—	1 ml

* 蒸留水に溶解し全量 1 l にする。

3. 分析条件

表1にアミノ酸、糖分析の分析条件を示した。表2にアミノ酸分析の溶離液、反応液の組成を、表3に糖分析の溶離液、反応液の組成を示した。

4. アミノ酸の分析例

図2にアミノ酸標準試料の分析例を示す。各アミノ酸の量は500pmolであり、分離、感度共に十分実用に耐えるものである。図3は健康な男子成人の尿の分析例である。尿を除タンパクした後、10倍に希釈その10μlを注入して分析したものである。図4は人血清の分析例である。血清を除タンパクし、そのまま7μlを注入し分析したものである。

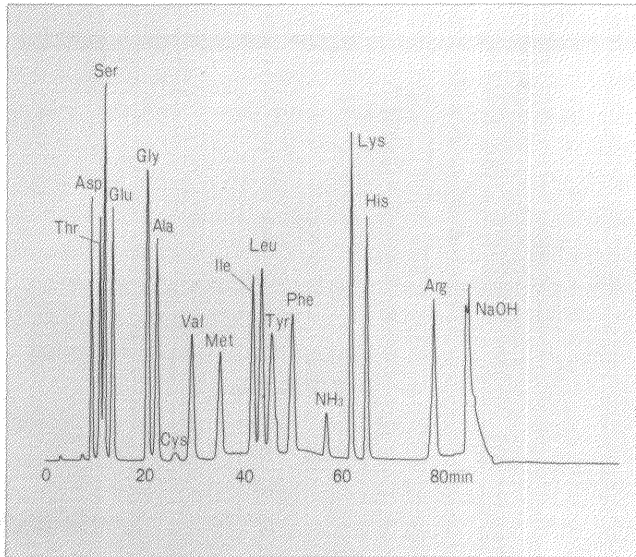


図2 アミノ酸標準試料の分析 (各500pmol)

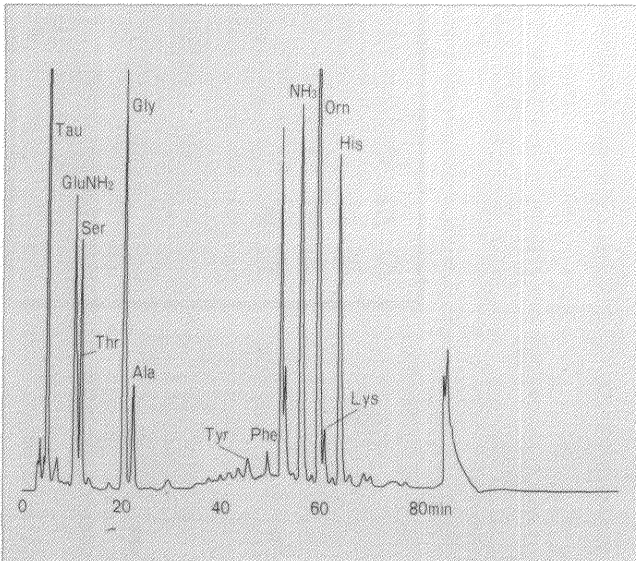


図3 健康男子成人の尿の分析

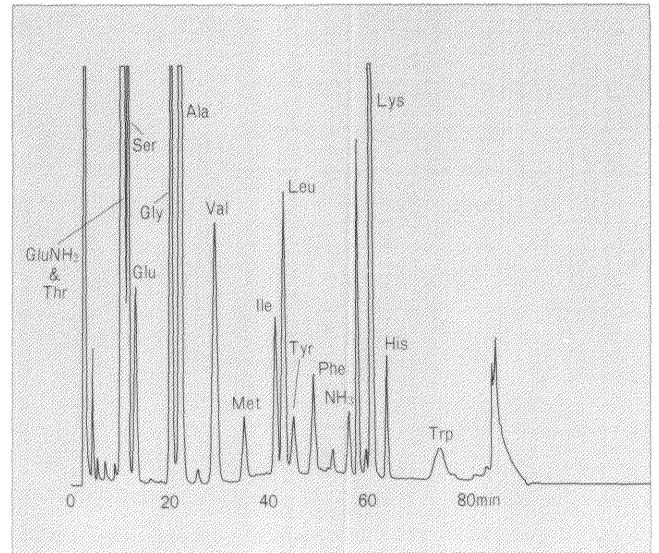


図4 人血清の分析

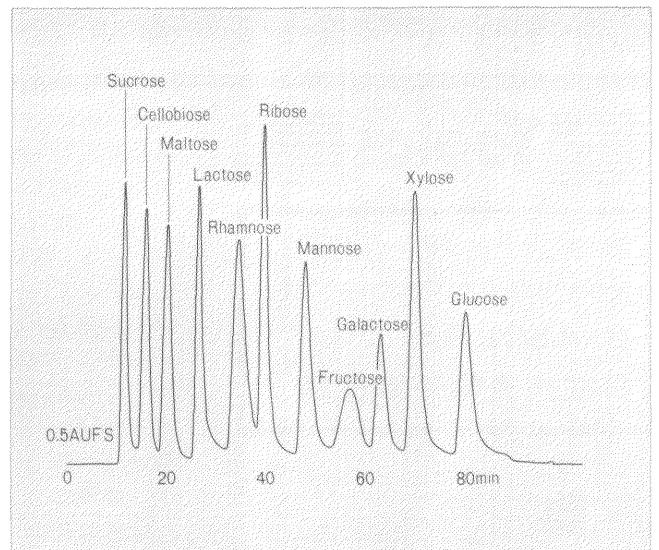


図5 糖の標準試料の分析 (各500nmol)

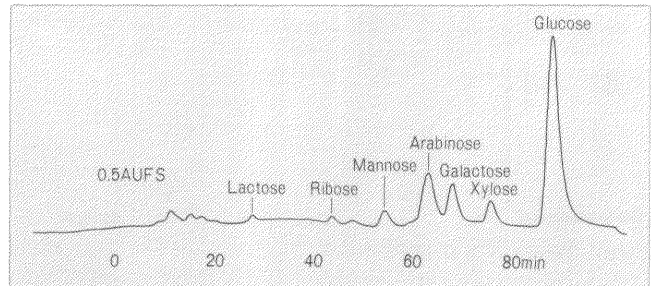


図6 しょう油の分析

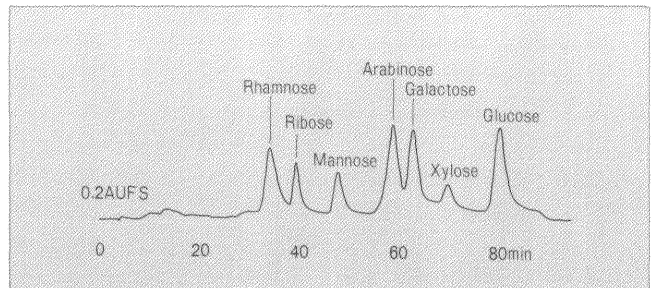


図7 クロレラの分析

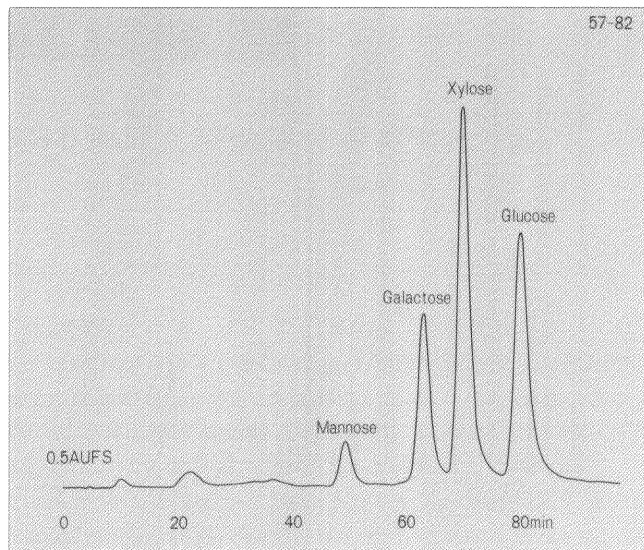


図8 サボニンの分析

5. 糖の分析例

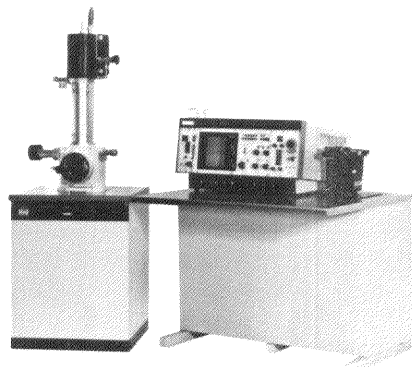
図5に糖の標準試料の分析例を示す。糖の量は各50mmolである。図6は健康な男子成人の尿を加水分解したもの、図7はクロレラ、図8はサボニンの分析例である。

6. おわりに

以上に示したように、反応クロマトグラフィは検出の特異性が高く、感度感度も高い。この方法により、簡単に試料を前処理するだけで生体中の微量成分が妨害成分の影響を受けることなく、容易に測定できる。今後新しい反応試薬が開発されてゆけば、分析対象は大きく拡大されることが期待される。

Topics

高輝度、長寿命のLaB₆電子銃を備えた多機能SEM
S-450LB形
日立走査電子顕微鏡



S-450LB形日立走査電子顕微鏡

S-450LB形は、既に発売されているS-400シリーズ(S-450形、S-430形、S-415形、S-405形)をさらに強化し、走査電子顕微鏡に初めてLaB₆電子銃を用いた機種として発売いたしました。

本機は、電子銃に単結晶のLaB₆フィラメントを装着し、従来のタングステンフィラメントに比べて高輝度かつ長寿命で、安定に作動します。又、機能的には、CRT画面を上下に二分割

して、異種倍率像や異種像(二次電子像や反射電子像等)を同時に表示するスプリットスクリーン/デュアルマグ装置や、写真番号・加速電圧・倍率スケール等の操作条件を画面上に表示するオートデータディスプレイ装置、試料から発生する反射電子信号を高感度に検出して観察できるハイパス形反射電子像装置、高分解能撮影用CRTを標準装置し、多様化を図っています。

■特 長

1. 高輝度

分解能5nm(50Å)を保証します。従来のタングステン・ヘアピン形フィラメントに比べて約1桁高い輝度が得られ、S/Nの良い画像が得られます。

2. 長寿命

LaB₆フィラメントは、従来のタングステン熱フィラメントに比べて15~20倍の寿命があります。

3. 多機能

(1)大形試料室と大形試料ステージを標準装備：試料サイズは最大102mm外径のものまで装着できます。大形IC観察や、クライオシステム(凍結試料観察装置)、試料引張装置等の付属装置を容易に装着でき、機能の拡張が図れます。

(2)豊富な付属装置：試料観察、分析等に役立つ付属装置が豊富に用意され、目的に応じた機能の拡張ができます。

(3)見やすく、操作しやすいディス

プレイ：大形ブラウン管(9インチ)の静止画像と、オートブライトネス、スティグマモニタ、ダイナミックフォーカス、スプリットスクリーン/デュアルマグユニット、オートデータディスプレイ、等の各種機能を標準装備した、見やすく、使いやすいディスプレイで、どなたにも簡単にSEMとしてご使用いただけます。

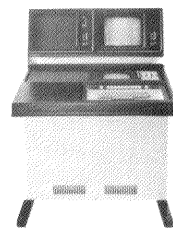
4. 高真空排気系

強力な排気システムにより、電子銃室は 5×10^{-7} Torr(イオンポンプ)、試料室は 5×10^{-6} Torr(デフュージョンポンプ)に排気され、高真空排気と高速排気を実現しました。

質量分析計の能力を飛躍的に向上させる新しいデータ処理装置。

M-003形

日立質量分析計データ処理装置。



M-003形日立質量分析計データ処理装置

質量分析計におけるデータ処理装置としては、分析計から得られる膨大な情報を操作性良く、正確・迅速に整理統合し、より高度な情報として提供することが要求されます。このたび、この要求にお応えしてM-003形データ処理装置を開発しました。M-003形では、中央制御コンピュータに加え、データ収集専用及び入出力制御専用と機能を集約させた独立のコンピュータを各々備え、総合的にバランスのとれたシステム効率の高いデータ処理システムとしています。

■特 長

1. 多重処理

コンピュータの高速性を利用し、たとえばデータ収集と並列して全く独立の処理を行なわせることができます。特に、GC-MS等で長時間のデータ収集を行ないながら、既収集データの処理、データの出力が行なえますので極めて効率良く仕事を進められます。

2. 操作性

ファンクションモニタ、ファンクションセレクタ、カーソルの採用により今までフルキーボードより設定していた複雑な処理、あるいはモニタ上の位置指定も簡単な操作で行なえるようになり、大幅な操作性向上を図ることができました。

3. プログラミング機能

ユーザサイドでプログラムを組み立て、簡単に指示できる柔軟性を持っていますので、出力フォーマット、処理の流れを自由に変更、再登録することができます。

4. データ収集専用コンピュータ

質量分析計の進歩は著しく単位時間当りに出力される情報量も増大しています。これに合わせ、この情報を正確に、かつ高速に取り込むために、サンプリング周期を $25\mu\text{sec}$ 、ダイナミックレンジ5桁を持つデータ収集専用コンピュータを採用しました。

5. 入出力制御コンピュータ

低速な入出力機器に対し、中央制御コンピュータが制御をサポートしているのではシステムの効率向上が図れません。M-003形では最小限の情報を中央制御コンピュータが与えれば処理を行なう能力（一般にインテリジェント機能と呼ぶ）を入出力制御コンピュータに持たせることにより機能の分散を

はかり、システム全体の稼働効力を上げています。

6. 自己診断機能

M-003形はROM化された診断プログラムを標準構成として内蔵し、システム起動時にシステム全体の稼働状況を判断するシステム診断機能及びメインシステムと分離して行なえる入出力制御コンピュータによる入出力専用診断機能と、2つの自己診断機能を有しており、トラブルの早期発見及び対策が容易です。

7. 豊富なソフトウェア

M-003形は、002B形データ処理装置で開発した豊富なソフトウェアを基にこれをさらに発展、拡張させたものです。GC-MSシステムソフト（標準）の他に、MiDシステムソフト、ミリマスシステムソフト、データ検索システムソフト（以上オプション）が体系的に用意されていますので、同一の思想（操作方法の統一、同一プロセッサの多重利用等）のもとに作動し、操作方法修得が非常に容易なソフトウェア構成となっています。

日立大形スペクトログラフ フ 基生研殿へ納入

昨年、基礎生物学研究所（愛知県岡崎市明大寺西郷中38、桑原万寿太郎所長）殿より受注した大形スペクトログラフをこのほど完成し、納入した。本研究所は文部省直轄の国立大学共同利用機関であり、大形スペクトログラフは世界最大の分光照射装置として国内はもとより海外の研究者達によりあまねく利用されることが期待されている。

本装置の主な使用目的は各種の光生物学的現象の作用スペクトルの測定であるが、強力照射光源としてその他色々な使用が可能である。動物、植物、微生物の成長、生殖、休眠、日周リズム等の多様な生命現象が外界の環境情報としての光によって制御されることが知られているが、その光情報入力素子としての各種の光受容物質の同定やその発現機構の解明に本装置は強力な武器となる。

本スペクトログラフは基礎生物学研

究所の地下一階に建設された。

室の大きさはおよそ幅16m、長さ20m、高さ5mで、その全体の構成図を図1に、機能図を図2に示す。

本装置は大別すると、光源部、分光器部、搬送機部、試料箱部及び制御系部から構成されている。

光源部は主光源として30kWの電極水冷型キセノン短アークランプ、副光源として6kWのキセノン短アークランプが用いられている。

又、波長校正用として中圧の水銀灯が内蔵されており、これらのランプのいずれかが自動的に選択されるようになっている。

分光器部は熱線カットフィルタ、入射スリット、変向平面鏡、集光鏡、回折格子、開閉遮光板及びフィルタ取付窓枠等からなっている。

集光球面鏡は全体の大きさは $(1100\text{mm})^2$ で、回折格子はその全体の大きさが $(900\text{mm})^2$ で、単一ブレースのものと、ダブルブレースのものが併用されている。

広い波長範囲をカバーするために回折格子はモンク・ギリーソン型に配置され、その水平焦点面は馬てい形状のものとなり、回折格子中心より水平焦点面までの距離は10mとなるよう設計されている。照射光の波長範囲は250nm～1,000nmで、既製のスペクトログラフに比し、紫外部及び赤外部ともに広い波長範囲での測定ができる。又、単色光強度も一桁程度高く、線分散は 0.8nm/cm で、文字どおり世界最高の性能を有する照射分光器である。

搬送機部は移動台車、懸垂送行式搬送機、試料箱設置台及び数値制御装置等からなり、試料箱を操作室から搬送し試料箱設置台（焦点曲面）上の任意設定波長位置に自動的に設置するためのものである。その設定の精度は焦点面方向で $\pm 3\text{mm}$ 、光軸方向で $\pm 5\text{mm}$ 、回折格子中心に向う向心角度で $\pm 0.5^\circ$ 以内である。

試料箱は種々の測定目的に応じて、最簡易形、簡易形、自動式スレッシュールド形、自動式単一形、自動式オプティカルファイバ形などが10数個用意されている。自動式試料箱内にはフィルタスリット、絞り、光ミキサ、シャッター、検知器、レンズ等とそれらを制御するマイコンが装填されており、全体制御

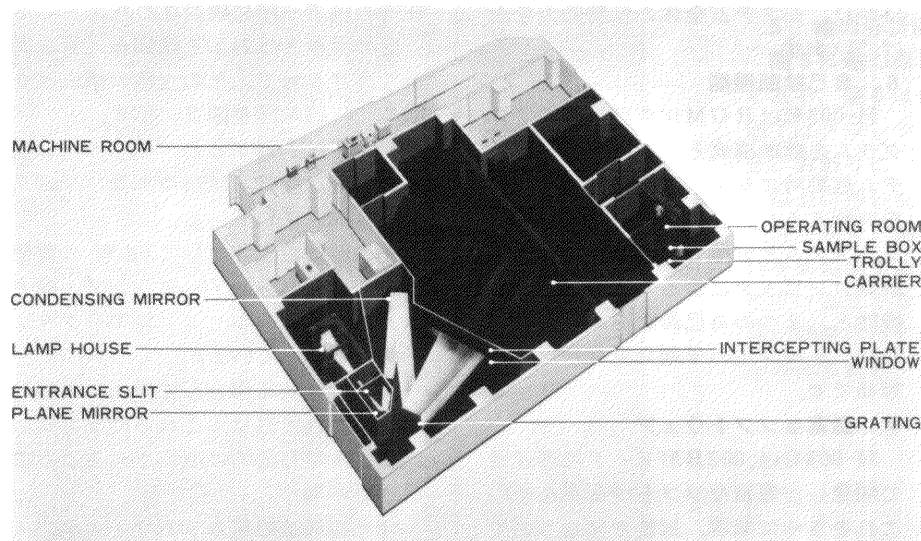


図1 大形スペクトログラフの構成図

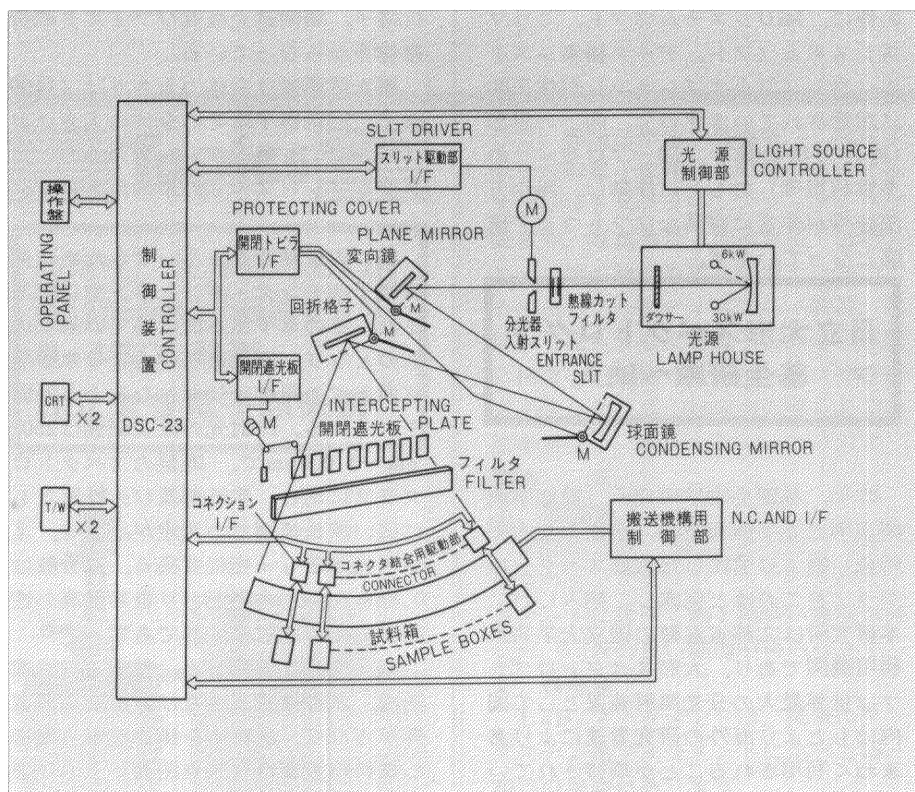
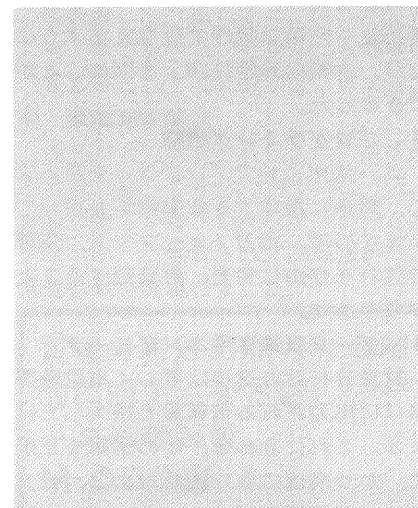


図2 大形スペクトログラフの機能図

装置からの指令により自動的に制御されるようになっている。スレッシュホールド形では試料を照射する光束の大きさが60mmφで、照射強度が各々50%程度ずつ減衰するようにされた8段階の試料設置区分を有している。単一室形では試料を照射する光束の大きさが250mm×100mmで、照射強度は一段階である。

制御装置は制御装置本体、CRT(2台)、タイプライタ(2台)、操作盤等からなり、本装置全体の操作、制御及び各種データ打ち出しなどを行なう。全システムを制御するコンピュータは語長16ビットで、主記憶装置容量が32キロ語、補助磁気ディスク記憶容量が512キロ語である。本システムの特長として、試料箱内の試料を照射する光強度を光子数で設定し、3種類の照射プログラムが選定でき、かつ、照射開始の実時間設定も可能なことがあげられる。

最後に、本装置の建設に際しては基礎生物学研究所殿側のご指導をいただいたこと、又、建設及び運転時の安全面については充分留意したことを付言する。



＜編集後記＞

- 本号の報文では、俵先生に、SEMによるウイルス粒子の観察における同定の手段として、免疫学的標識法を応用した例を報告して頂きました。
- ガスクロマトグラフ用FTD検出器は、チッ素、リン含有化合物に、特異的に、高感度を持つことが知られており、本号の報文では、これをニ

コチン、およびその代謝産物であるコチニンの定量に応用した例を報告いたしました。

本NEWSに関するお問合せは、下記へご連絡ください。
日製産業株式会社 マーケティング部
東京都港区虎ノ門1丁目26番5号 第17森ビル
〒150 電話 ダイアルイン 東京(03)504-7211

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS SUMMER 1980 Vol.23 No.2

発行 昭和55年7月1日
(年4回 発行)
発行人 湯川 清
編集人 小沢恭一 岩井孝之
発行者 株式会社 日立製作所 計測器事業部
〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号第17森ビル
電話 ダイアルイン 東京(03)504-7866
印刷所 日立印刷株式会社

訂 正

過般お送り致しましたH.S.I. NEWS Vol. 23 No.2 (SUMMER 1980) 及びNo. 3/4 (WINTER 1980) に下記のような誤りがありました。

謹んでお詫びの上、訂正させていただきます。

Vol. NO	頁	位 置	訂 正 前	訂 正 後
23 2	10	表 2 題目	アミノ酸析用溶離液, 反応液組成	アミノ酸分析用溶離液, 反応液組成
		表 2 下から 2 行目 Brij-35	19.05g	1.00g
		表 2 下から 1 行目, ホウ酸ナトリウム	1.00g	19.05g
23 3/4	1	ごあいさつ, 上から 3 行目	那河工場	那珂工場
	2	本文上から 1 行目	試料に当てると	試料に当てると
		右側写真説明	HSF-ST	HFS-2ST
	3	左側 上から 4, 11, 行目	酢酸イソアルミ	酢酸イソアミル
	4	トピックス 題目	the 1974	the 1980
	19	左側 本文上から 2 行目	図 3 に示すように	図 5 に示すように