

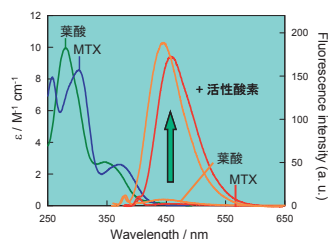
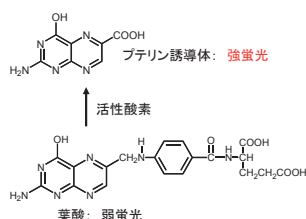
活性酸素の定量法

Keyword： 光化学、蛍光定量法、活性酸素、過酸化水素、一重項酸素

研究の概要

ビタミンBの一つに分類される葉酸は、蛍光をほとんど発しないが、活性酸素などによる酸化分解で強い蛍光性の物質を生成する。この原理を利用して、活性酸素の中でも特に重要な過酸化水素と一重項酸素を選択的に検出・定量する。様々な化学物質が酸化される過程でスーパーオキシドが発生するが、速やかに過酸化水素に変わる。過酸化水素は寿命が長く、細胞膜を透過する等の性質があり、金属イオンや紫外線によって強力な活性酸素であるヒドロキシルラジカルを発生する。一方、太陽光線による光線過敏症等には、一重項酸素が関わっている。光の照射で生成する活性酸素のほとんどが一重項酸素である。過酸化水素の定量では、銅イオン(塩化銅など)を添加して行う。一重項酸素の検出では、色素などの対象物質へ発光ダイオード等を利用して光照射すると便利である。また、葉酸の誘導体のメソトレキサート(アメトプテリン)は、多少高価であるが、バックグラウンド蛍光が無く、より高感度な測定が可能である。

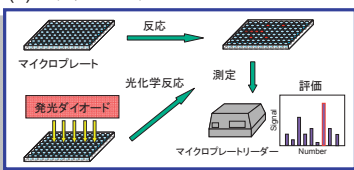
葉酸は、プテリジン環を有し、青色の蛍光が期待されるが、分子内にあるアミノベンゾイルにより蛍光が消光される。プテリジンとアミノベンゾイルをつなぐ炭素-窒素結合は、活性酸素により切断され、葉酸では、プテリジン誘導体が生成する。



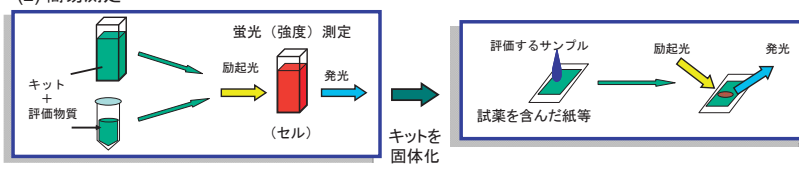
← 葉酸と誘導体(メソトレキサート:MTX)の吸収・蛍光スペクトル

↓ 製品化のイメージ(活性酸素検出用のキットを作成)

(1) スクリーニング



(2) 簡易測定



・特筆すべき研究ポイント:

- ・非常に安価な試薬で過酸化水素と一重項酸素を検出、定量可能
- ・過酸化水素の検出限度: 0.5 μM
- ・過酸化水素生成速度の検出限界: 10 nM/min
- ・一重項酸素の検出限度: 量子収率で0.001 (光感受性物質の濃度、光の強度に依存)
- ・メソトレキサートの使用で感度向上・活性酸素のみならず光毒性作用も評価可能

・新規研究要素:

- ・同程度の感度をもつ蛍光試薬としては最も安価

・従来技術との差別化要素・優位性:

- ・安全なビタミン類を蛍光検出試薬に使用
- ・試薬が非常に安価

・特許等出願状況:

- ・活性酸素の定量法、特願2004-309573号、特許第4247393号

アピールポイント

■ 技術相談に応じられる関連分野

- ・活性酸素検出
- ・光毒性評価
- ・光触媒
- ・金属ナノ粒子の合成
- ・活性酸素除去
- ・光毒性防護
- ・ポルフィリンの合成

■ その他の研究紹介

- ・光線力学的療法用光増感剤の開発
- ・多元金属ナノ粒子の開発 (物理混合法)
- ・ポルフィリンの合成
- ・触媒を用いた活性酸素の除去
- ・光毒性物質の評価
- ・光毒性、紫外線障害の防護に関する研究
- ・DNAの光化学
- ・電子移動、光エネルギー移動の研究



平川 和貴

学術院工学領域
化学バイオ工学系列
准教授