

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02078

研究課題名(和文) マルチカラー酸素プローブ分子群を駆使した3次元細胞内の酸素濃度イメージング

研究課題名(英文) Oxygen imaging of 3D living cells using multi-color oxygen sensing probes

研究代表者

吉原 利忠 (Yoshihara, Toshitada)

群馬大学・大学院理工学府・准教授

研究者番号：10375561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、Ir錯体を基軸としたマルチカラー発光酸素プローブ分子を設計・合成し、3次元培養されたスフェロイド内の酸素濃度および濃度分布を、共焦点顕微鏡を用いて高感度、非侵襲的にイメージングした。また、実用的な酸素濃度解析試薬として、高い細胞親和性を示すレシオ酸素プローブ分子を開発した。これにより、平面培養細胞では得られないより組織に近い状態で、酸素濃度解析が可能となり、個々の細胞内代謝過程の違いや、がん腫瘍など低酸素組織内部の酸素化状態について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

酸素は、我々が生命活動を維持するために必要不可欠な分子です。本研究では、組織モデルとして良く利用されている細胞塊(スフェロイド)内の酸素レベルを明らかにする方法論の開発に取り組みました。得られた研究成果から、スフェロイド内部の細胞は、外側の細胞に比べてより低酸素環境に陥っていることが分かりました。この知見は、がん腫瘍など、細胞が異常増殖し血流が不十分な組織内の酸素レベルを明らかにすることに繋がります。がんの発見、診断、治療法の開発に貢献することができます。

研究成果の概要(英文)：In this study, we designed and synthesized intracellular oxygen probes based on phosphorescent iridium complexes for sensing oxygen levels into 3D-spheroids by using confocal phosphorescence lifetime imaging microscopy (PLIM). Moreover, ratiometric molecular probes consisting of a green fluorophore and a deep red phosphor connected by oligo arginine linkers were developed. We succeeded the detection and visualization of intracellular oxygen levels of 3D-spheroids and living tissues using our probes and PLIM system.

研究分野：光化学

キーワード：りん光 イリジウム錯体 りん光寿命 イメージング 酸素 細胞 組織

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

酸素は好気性生物の代謝過程において必要不可欠な分子であり、細胞は生命活動維持のために酸素を消費している。細胞内の酸素濃度が減少すると、低酸素誘導因子である HIF-1 $\alpha$  が細胞内に蓄積することで、代謝過程に変化が生じることが指摘されている。一方、生きた細胞および組織内の酸素濃度(分圧)を計測する技術の開発は、細胞生物学の基礎研究だけでなく、我国の3大死亡原因である‘がん、脳卒中、心筋梗塞’などの低酸素状態が関与する病態の診断や治療においても重要である。近年、細胞内にプローブ分子と呼ばれる小分子を取り込ませて、細胞外から光を照射し、プローブ分子から得られる発光をもとに、細胞内の微小環境や代謝過程を明らかにする光イメージング研究が進められている。この方法の利点は、細胞を生かしたまま、リアルタイムで長時間観察できることである。このため、共焦点レーザー顕微鏡や多光子蛍光顕微鏡など高性能な顕微鏡および EMCCD カメラなど高感度な検出器が開発、市販されている。しかしながら、‘酸素’を直接モニターするための発光プローブ分子の開発は国内外において非常に遅れている。

酸素をモニターするためには、酸素濃度に依存してプローブ分子の発光強度、寿命が変化することが必要であり、これらが酸素濃度に大きく依存する‘りん光プローブ分子’が有効である。研究代表者は、イリジウム錯体(Ir 錯体)がこれまで報告されている有機金属錯体よりも高効率なりん光を示すことを明らかにし、赤色りん光を示す Ir 錯体を用いて HeLa 細胞などの平面培養細胞において、低酸素培養下でりん光強度が顕著に増加すること、また、担がんマウス内の腫瘍や虚血部位を選択的に光イメージングできることを示した。

研究代表者は、これまでの研究から平面培養細胞で得られた酸素濃度の知見を、直接組織に適用することは困難であると理解している。つまり、平面培養では酸素は培養液から各細胞に均一に拡散するため、細胞間の差は小さくなる。しかしながら、組織では血管を通して細胞に拡散するため、血管に近い細胞と遠い細胞では、酸素濃度が異なり代謝過程において差が生じる。特にがんなどの低酸素病態では、血管が少なくかつ脆弱であるため、酸素濃度差はより大きくなることが予想される。実際の腫瘍を用いて実験することが理想ではあるが、動物愛護の観点から代替実験を検討することは重要である。スフェロイドをはじめとする3次元培養はこれを解決する1つの手法であり、近年、活発に研究が行われ始めている。

3次元培養された積層細胞やスフェロイドは、培養液に接している表面細胞が最も酸素拡散量が多いのに対して、2層目、3層目になるにつれて酸素拡散量が低下する。よって酸素濃度勾配が生じ、内部になるほど低酸素になることが予想される。本申請課題では、組織に近い環境として積層細胞およびスフェロイドを主な対象とし、深さ方向の酸素濃度勾配について明らかにすることを旨とする。酸素プローブ分子として、研究代表者は赤色光領域にりん光を示す Ir 錯体の開発を行った。このため、同じ赤色光領域に発光を示す他のバイオイメージング試薬と同時に使用できないなど制限があった。ここでは、青、緑、黄色、近赤外光領域にそれぞれりん光を示すマルチカラー Ir 錯体群を創製する。開発した酸素プローブ分子と共焦点顕微鏡を用いて、スフェロイド内の酸素濃度勾配について明らかにし、低酸素組織やがん腫瘍内の酸素化状態の理解につなげる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、Ir 錯体を基軸としたマルチカラー発光酸素プローブ分子を設計・合成し、3次元培養された積層細胞内やスフェロイド内の酸素濃度および濃度分布を、共焦点顕微鏡を用いて高感度、非侵襲的にリアルタイム計測・イメージングすることである。マルチカラー発光酸素プローブ分子は、青色から近赤外発光をそれぞれ示す分子を開発し、他のバイオイメージングプローブ分子と同時に使用できるようにする。また、実用的な酸素濃度解析試薬として、高い細胞親和性を示すレシオ酸素プローブ分子も開発する。これにより、平面培養細胞では得られないより組織に近い状態で、酸素濃度解析が可能となり、個々の細胞内代謝過程の違いや、がん腫瘍など低酸素組織内部の酸素化状態について明らかにすることを目指す。

### 3. 研究の方法

(1)本研究では、細胞内に取り込まれ易く様々な発光色を示す Ir 錯体について、異なる芳香族配位子を用いて設計・合成を行った。

(2)開発した Ir 錯体の光化学・光物理特性(吸収・発光スペクトル、発光量子収率、発光寿命)を溶液中で測定を行った。溶液中の溶存酸素濃度は、マスフローコントローラで制御した。

(3)開発した Ir 錯体を用いた細胞イメージング実験および細胞移行性の評価を行った。

(4)3次元培養されたスフェロイド内の酸素濃度および濃度分布を、共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡(PLIM)を用いて測定した。顕微鏡には温度と酸素分圧を任意にコントロールできる簡易型培養器を取り付け、細胞の長時間維持や培養酸素分圧の制御を行った。

(5)細胞内に取り込まれやすいレシオ型分子酸素計の設計・合成を行った。そのために、蛍光団として緑色蛍光プローブ、りん光団として深赤色りん光 Ir 錯体、ペプチドリンカーとしてオリ

ゴアルギニンリンカーを用いた。オリゴアルギニンリンカーはペプチド自動合成装置を用いて固相合成法により合成を行った。また、分子酸素計の精製は分取 HPLC を用いた。

#### 4. 研究成果

(1) 図 1 に合成した Ir 錯体の構造式を示す。発光色を変えるための配位子として異なる構造を有する芳香族化合物 (赤色表示)、一方、細胞親和性を制御するための配位子としてアルキル鎖長の異なるエチレンジアミン類 (青色表示) を用いた。

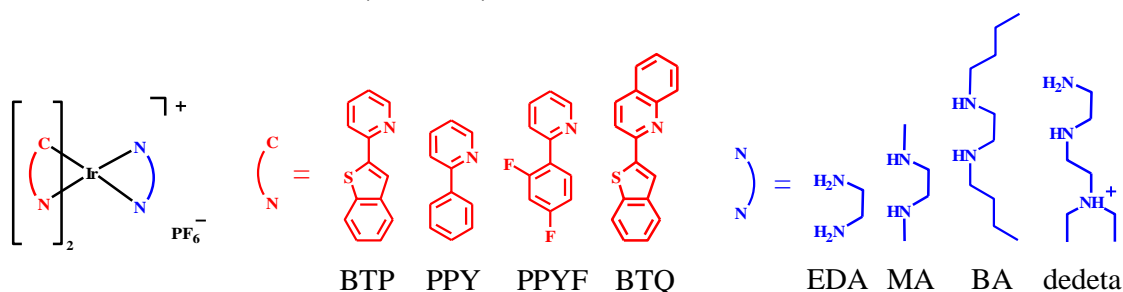


図1 合成したイリジウム錯体の構造式

(2) 合成した 16 種類の Ir 錯体の吸収・りん光スペクトル, りん光量子収率, りん光寿命をアセトニトリル中において測定した。芳香族配位子として PPFY, PPY, BTP, BTQ を有する Ir 錯体において, それぞれ青色, 緑色, 赤色, 深赤色りん光を示した。これらスペクトル特性は, エチレンジアミン類には大きく依存しなかった。また, すべての Ir 錯体において, りん光量子収率は 0.15 以上であり, 特に PPY を有する Ir 錯体では, 0.5 以上の値を示した。さらに, 空気飽和下のりん光量子収率およびりん光寿命は, 脱酸素下と比較して著しく減少したことから高い酸素応答性を有していることが明らかとなった。この酸素によるりん光消光機構を詳細に検討するために, 反応の自由エネルギー変化 ( $G_{e1}$ ) に対して消光速度定数 ( $k_q$ ) をプロットした。その結果,  $G_{e1}$  が負の領域では, 値が負に増加するにつれて  $k_q$  値が増加するのに対して,  $G_{e1}$  が正の領域では,  $k_q$  値はほぼ一定であった。これより, 酸素による Ir 錯体のりん光消光には, エネルギー移動反応に加えて電子移動反応もあることが分かり, 電子移動反応の寄与が,  $G_{e1}$  の減少に伴い増加することが明らかとなった。

(3) 合成した 16 種類の Ir 錯体を HeLa 細胞の培養液に添加し, 細胞イメージング実験を行った。細胞取り込み能は, エチレンジアミン類の構造に大きく依存した。図 2 に BTP を芳香族配位子とした Ir 錯体の結果を示す。エチレンジアミン類のアルキル鎖長が増加するにつれて, 細胞が鮮明にイメージングされている。これら Ir 錯体の光物理特性はほぼ同じであるため, 輝度が高いほど細胞への取り込み能が高いことを示している。他の Ir 錯体においても同様の結果であり, 合成した Ir 錯体の中では, ジブチルエチレンジアミンを配位子とした Ir 錯体が最も細胞移行性が高いことが明らかとなった。

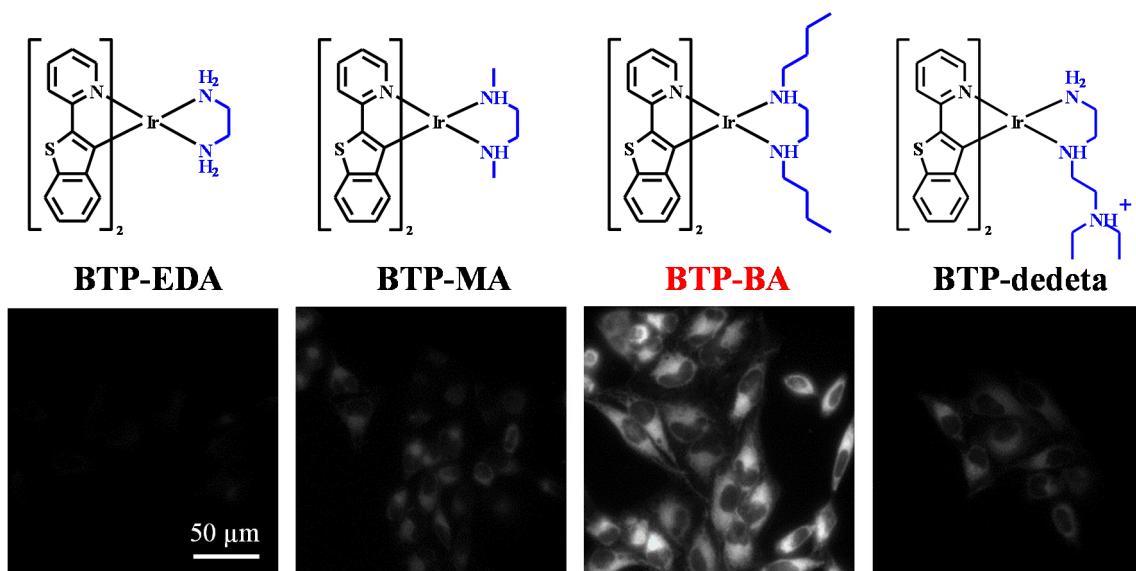


図2 芳香族配位子にBTPを用いたIr錯体を添加したHeLa細胞の発光顕微画像

また、HeLa 細胞中に分布する BTP-BA のりん光強度の酸素分圧依存性を検討したところ、低酸素培養(2.5%O<sub>2</sub>)において、より発光強度が増加することがわかり、細胞内においても酸素応答性を示すことが明らかとなった。

(4)組織は細胞が3次元に配列しており、細胞内酸素濃度は各細胞によって異なる。組織を理解する場合において、平面培養での知見は十分ではないため、細胞の3次元構造体であるスフェロイドを実験対象とした。スフェロイドのような3次元に集積した細胞においては、共焦点光学系を用いて、 $x, y$ に加えて $z$ 方向に分割したイメージング画像を取得することが重要である。図3にスフェロイドの培養培地にIr錯体を添加して2時間後に取得したりん光寿命イメージング画像を示す。スフェロイド内部からりん光が観測されていることから、Ir錯体はスフェロイドを形成する各細胞に取り込まれてことがわかる。りん光寿命( $\tau_p$ )に注目すると、スフェロイド底面の寿命は、底面から50 $\mu\text{m}$ 上部と比較して長い。これはスフェロイド上部細胞が培養液に接しているため、十分に酸素が供給される一方、底面細胞では上部細胞によって酸素が消費され低酸素状態になることを示している。この結果を組織で考えると、毛細血管近傍の細胞に比べて、血管から遠くに位置する細胞では酸素濃度が低いことを表しており、腫瘍のような血管が脆弱な場合、各細胞間の酸素濃度が大きく異なることが予想される。スフェロイド実験から得られた成果は、今後、組織内酸素分圧を測定するための重要な知見と考える。

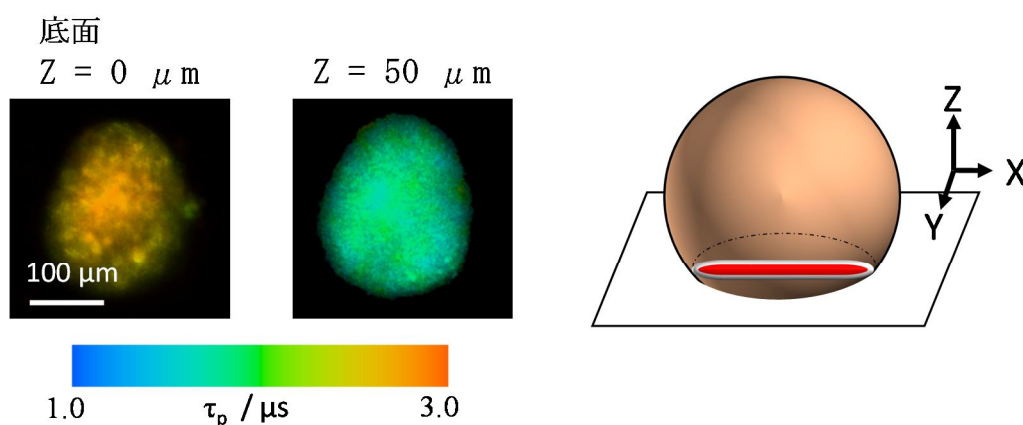


図3 Ir錯体を取り込ませたHT-29スフェロイドのりん光寿命イメージング画像

(5)りん光寿命イメージング法は、スフェロイドのような3次元培養細胞の酸素レベルに関する知見を与えるが、装置が特殊なため多くの研究者が使用できない。そのため、より汎用性の高い方法を開発することも寿命である。本研究では、緑色蛍光団と深赤色りん光団をオリゴアルギニンペプチドリンカーで結合させたレシオ型分子酸素計の設計・合成を行った。緑色蛍光団としてはニトロベンゾフラザン誘導体(NBD)、深赤色りん光団には、BTQ(図1を参照)を芳香族配位子としたIr錯体を用いた。開発したレシオ型分子酸素計は、単一波長励起によって、NBD由来の蛍光とBTQ由来のりん光が同時に観測された。また、NBD由来の蛍光は、溶液中の酸素分圧変化に対してほぼ一定強度を示すのに対して、BTQ由来のりん光は、酸素分圧の増加に対して強度の減少が観測された。この分子をHeLa細胞の培養液に添加したところ、細胞内に取り込まれ、溶液同様に蛍光とりん光が観測され、それらの比(レシオ)が、培養酸素分圧に依存して変化することを明らかにした。この分子がスフェロイド内に取り込まれるか今後実験を行う予定である。

(6)本研究課題を遂行する上で、図1に加えて、芳香族配位子にジエチルアミノクマリン類、補助配位子にエチレンジアミン類を用いたカチオン性イリジウム錯体の合成を行い、スペクトル特性、光物理特性、電気化学特性に関する測定を行った。また、細胞移行性の実験からエチレンジアミンの窒素原子に結合した水素をブチル基に置換した化合物において、細胞親和性が大きく向上し、また、ミトコンドリアに主に集積することを見出した。開発したイリジウム錯体はりん光寿命が長いこと、市販のマイクロプレートリーダーの時間分解計測機能を用いることで、りん光寿命計測ができることがわかった。大腸がん由来の生細胞にイリジウム錯体を取り込ませ、細胞の呼吸活性を変化させる試薬を添加したところ、呼吸を活性化する試薬では、細胞内の酸素濃度が時間に依存して減少すること、一方、呼吸を阻害する試薬では、酸素濃度がわずかに増加することを定量的に示した。

平面培養細胞およびスフェロイドの知見もとに、共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いて、組織のイメージングを試みた。麻酔下にあるマウスの肝臓の肝小葉が単一細胞レベルでイメージングできることがわかり、また、肝小葉に酸素分圧勾配があることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hoshi Ryosuke, Suzuki Kengo, Hasebe Naoya, Yoshihara Toshitada, Tobita Seiji	4. 巻 92
2. 論文標題 Absolute Quantum Yield Measurements of Near-Infrared Emission with Correction for Solvent Absorption	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 607 ~ 611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yasukagawa Mami, Yamada Keiich, Tobita Seiji, Yoshihara Toshitada	4. 巻 383
2. 論文標題 Ratiometric oxygen probes with a cell-penetrating peptide for imaging oxygen levels in living cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry	6. 最初と最後の頁 111983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2019.111983	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 平川陽亮, 南学正臣, 飛田成史	4. 巻 12
2. 論文標題 りん光寿命計測に基づく組織内酸素分圧イメージング	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JSMI Report	6. 最初と最後の頁 3-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akiyama H., Takahashi I., Shimoda Y., Mukai R., Yoshihara T., Tobita S.	4. 巻 17
2. 論文標題 Ir(III) complex-based oxygen imaging of living cells and ocular fundus with a gated ICCD camera	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Photochemical & Photobiological Sciences	6. 最初と最後の頁 846 ~ 853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="http://dx.doi.org/10.1039/C8PP00122G">http://dx.doi.org/10.1039/C8PP00122G</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirakawa Yosuke, Mizukami Kiichi, Yoshihara Toshitada, Takahashi Ippei, Khulan Purevsuren, Honda Tomoko, Mimura Imari, Tanaka Tetsuhiro, Tobita Seiji, Nangaku Masaomi	4. 巻 93
2. 論文標題 Intravital phosphorescence lifetime imaging of the renal cortex accurately measures renal hypoxia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 1483 ~ 1489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.01.015">https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.01.015</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計43件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 藤井芳樹, 塩崎秀一, 田村拓人, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体とりん光寿命イメージング顕微鏡を用いた眼底血管の酸素濃度計測
3. 学会等名 令和元年度日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 広瀬達也, 吉原利忠, 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 飛田成史
2. 発表標題 クマリン誘導体を配位子に有するIr( )錯体の開発と生体内酸素プローブへの応用
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川卓視, 斎藤正貴, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 白金錯体の光物理特性および生体内酸素プローブへの応用
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋祐紀, 吉原利忠, 塩崎秀一, 松村菜生, 飛田成史
2. 発表標題 クマリン類を配位子に有するイリジウム錯体を用いた高輝度水溶性酸素プローブの開発
3. 学会等名 2019年光化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光イメージング顕微鏡を用いた肝臓組織の高 分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第7回低酸素研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉原利忠, 綿貫千優, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体の開発および血中酸素イメージング
3. 学会等名 第41回日本光医学・光生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉原利忠, 松村菜生, 湯浅志保, 塩崎秀一, 飛田成史
2. 発表標題 細胞および血中酸素プローブを用いた組織内酸素分圧イメージング
3. 学会等名 第14回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田村拓人, 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 片野彩花, 松村菜生, 六代範, 西山正彦, 飛田成史
2. 発表標題 PLIM法を用いたがん組織の高分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第14回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Yasukagawa, S. Tobita and T. Yoshihara
2. 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes Based on Green Fluorophore and Red Phosphor for Visualization of Intracellular Oxygen Level
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Bioimaging, September (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片野彩花, 水上輝市, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光イメージング顕微鏡を用いた肝臓組織の高 分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第7回低酸素研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Yoshihara, H. Akiyama, S. Rokudai, M. Nishiyama and S. Tobita
2. 発表標題 Emission Lifetime Images of Living Tissues Using a Phosphorescence Iridium(III) Complex and Confocal Lifetime Imaging Microscopy
3. 学会等名 5th International Symposium of Gunma University Medical Innovation and 9th International Conference on Advanced Micro-Device Engineering (国際学会)
4. 発表年 2018年



1 . 発表者名 T. Yoshihara, S. Sato, N. Matsumura, S. Shiozaki and S. Tobita
2 . 発表標題 Green-Emitting Iridium(III) Complexes with Phenylpyridine Ligands for Oxygen Sensing in Living Cells
3 . 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 K. Muzukami, N. Matsumura, S. Yuasa, T. Yoshihara and S. Tobita
2 . 発表標題 High-Resolution imaging of Oxygen Status of Mouse Kidney by Phosphorescence Lifetime Imaging Microscopy
3 . 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 M. Yasukagawa, T. Yoshihara and S. Tobita
2 . 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes with Cell-Penetrating Peptide for Intracellular Oxygen Imaging
3 . 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 K. Mizukami, T. Yoshihara and S. Tobita
2 . 発表標題 High-Resolution Oxygen Imaging of Cell Spheroid and Living Tissues Using Phosphorescence Lifetime Imaging Microscopy
3 . 学会等名 The 27th IUPAC Symposium on Photochemistry ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 吉原利忠, 水上輝市, 平川陽亮, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 水溶性イリジウム錯体(III)を用いた腎 臓の血中酸素イメージング
3. 学会等名 日本化学会第99 回春季年会 (2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安カ川真美, 吉原利忠, 山田圭一, 飛田成史
2. 発表標題 細胞内酸素レベル計測を目指した緑色蛍光・赤色りん光レシオ酸素プローブの開発
3. 学会等名 日本化学会第99 回春季年会 (2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 りん光寿命イメージング法によるin vivo 酸素分圧計測
3. 学会等名 第41 回日本 分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上輝市, 片野彩花, 塩崎秀一, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 りん光寿命計測に基づく細胞スフェ ロイドと肝臓の高分解能酸素イメージング
3. 学会等名 第16 回がんとハイポキシア研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村拓人, 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 六代範, 西山正彦, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡(PLIM)を用いた腫瘍組織のin vivo 酸素イメージング
3. 学会等名 第16 回がんと ハイポキシア研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mami Yasukagawa, Toshitada Yoshihara and Seiji Tobita
2. 発表標題 Development of Ratiometric Oxygen Probes with Cell Penetrating Peptide and Measurement of Intracellular Oxygen Levels
3. 学会等名 2018 年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星亮輔, 鈴木健吾, 吉原利忠, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 積分球を用いた近赤外絶対発光量子収率測定
3. 学会等名 2018 年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野晃貴, 吉原利忠, 水上輝市, 飛田成史
2. 発表標題 マルチカラー酸素イメージングを目指したカチオン性イリジウム錯体の開発
3. 学会等名 2018 年光化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉原利忠, 塩崎秀一, 平川陽亮, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた組織内酸素分圧計測
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上輝市, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 PLIM 法による細胞スフェロイドの酸素化状態のリアルタイムイメージング
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 湯浅志保, 吉原利忠, 片野彩花, 松村菜生, 塩崎秀一, 飛田成史
2. 発表標題 アミノデキストランに配位子を結合させた血中滞留型Irr 錯体を用いた腎臓の血管イメージング
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片野彩花, 水上輝市, 塩崎秀一, 松村菜生, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた肝臓内酸素化状態の高分解能イメージング
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松村菜生, 塩崎秀一, 水上輝市, 齋藤正貴, 片野彩花, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 ポリエチレン グリコールを配位子に有する水溶性Ir 錯体を用いた膵臓の血中酸素濃度測定
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村拓人, 吉原利忠, 水上輝市, 塩崎秀一, 片野彩花, 松村菜生, 六代 範, 西山正彦, 飛田 成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた腫瘍の酸素化状態の高分解能イメージング
3. 学会等名 第13 回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Yoshihara, H. Akiyama, S. Rokudai, M. Nishiyama and S. Tobita
2. 発表標題 Emission Lifetime Images of Living Cells and Tissues Using a Phosphorescence Iridium(III) Complex and a Confocal Lifetime Imaging Microscopy
3. 学会等名 4th International Symposium of Gunma University Medical Innovation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Yoshihara and S. Tobita
2. 発表標題 Ratiometric Small Molecular Probes Based on Dual Emission for Intracellular Oxygen Sensing
3. 学会等名 OSA Biophotonics Congress: Optics in the Life Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安カ川真美, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 オリゴアルギニンリンカーを用いたレシオ酸素プローブの光物理特性および細胞内酸素センシング
3. 学会等名 平成29年度日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉原利忠, 平川陽亮, 水上輝市, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 イリジウム錯体のりん光寿命計測に基づく腎臓の酸素レベル計測
3. 学会等名 2017年光化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Purevsuren Khulan, 水上輝市, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 共焦点りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた脂肪細胞中の酸素イメージング
3. 学会等名 2017年光化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田健登, 大阿久智樹, 榎靖幸, 土橋敏明, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 イリジウム錯体を発光プローブとしたシリコーンゲル膜酸素センサー
3. 学会等名 2017年光化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 齋藤正貴, 平野翔太, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 Ir(III)錯体を用いた細胞内酸素濃度定量: 培養細胞を用いた検量線の作成
3. 学会等名 2017年光化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉原利忠, 佐藤佐紀, 永森愛美, 飛田成史
2. 発表標題 細胞内多色酸素濃度イメージングを目指した緑色りん光イリジウム錯体の開発
3. 学会等名 第12回日本分子イメージング学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安カ川真美, 吉原利忠, 飛田成史
2. 発表標題 細胞膜透過性ペプチドを有するレシオ酸素プローブを用いた細胞内酸素センシング
3. 学会等名 第12回日本分子イメージング学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平川陽亮, 吉原利忠, 三村維真理, 南学正臣, 飛田成史
2. 発表標題 りん光寿命イメージング顕微鏡を用いた腎表面酸素分圧勾配の抽出
3. 学会等名 第12回日本分子イメージング学会学術大会
4. 発表年 2017年

## 〔図書〕 計2件

1. 著者名 T. Yoshihara, Y. Hirakawa, M. Nangaku and S. Tobita (共著), Editors: Dmitri B Papkovsky, Ruslan I Dmitriev	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry, London	5. 総ページ数 368
3. 書名 Quenched-phosphorescence Detection of Molecular Oxygen: Applications in Life Sciences	

1. 著者名 吉原利忠(分担執筆), 片岡一則(編著)	4. 発行年 2017年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 254
3. 書名 ナノテクノロジーが拓く未来の医療	

## 〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 細胞および組織内酸素濃度測定試薬	発明者 吉原利忠, 広瀬達也, 飛田成史	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-153754	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

## 〔取得〕 計0件

## 〔その他〕

<a href="https://tobita-lab.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/">https://tobita-lab.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/</a> 群馬大学大学院理工学府分子科学部門飛田研究室 <a href="http://tobita-lab.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/">http://tobita-lab.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/</a>
--

## 6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----