

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 25 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22550087

研究課題名（和文）細胞内微小器官局在化蛍光プローブを用いた正味の細胞内抗酸化活性測定

研究課題名（英文）Measurement of intracellular antioxidant activity using organelle localized fluorescence probes

研究代表者

塩路 幸生 (SHIOJI KOSEI)

福岡大学・瑠学部・准教授

研究者番号：80291839

研究成果の概要（和文）：ミトコンドリアでの活性酸素種(ROS)の過剰産生やそれともなう漏出は、動脈硬化やアルツハイマー病さらには癌の転移に重大な寄与をする。本研究は、ミトコンドリアに局在化し、さまざま蛍光波長を有する過酸化物質感受性蛍光プローブの合成を行った。また、核に局在化する ROS 感受性蛍光プローブの合成を行った。さらに、抗酸化剤の細胞膜透過性と細胞内微小器官まで移行する能力とを含めた正味の細胞内抗酸化活性の測定方法確立した。

研究成果の概要（英文）：Mitochondria are functionally important subcellular organelles; they are a major source of reactive oxygen species (ROS) in mammalian cells and are major targets of oxidative damage. Such damage to mitochondria has serious consequences such as cell death caused by the termination of energy generation. In this study, we synthesized mitochondria localized fluorescence probe having several wave lengths, and a nucleus localized hydrogen peroxide sensitive fluorescence probe. The measurement of measurement of intracellular antioxidant activity using these fluorescence probes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

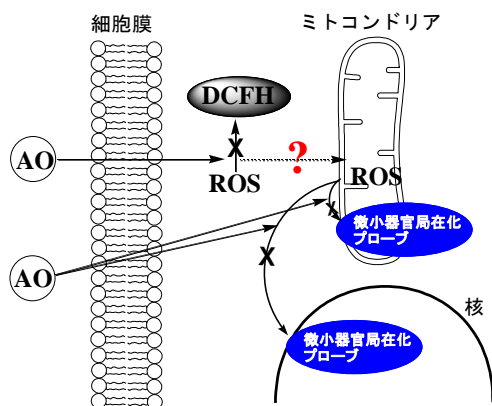
キーワード：可視化・細胞・組織・ストレス・抗酸化

1. 研究開始当初の背景

活性酸素種 (ROS) は、生物の生存に必須のエネルギー獲得機能そのものに含まれる酸化化学因子 (ラジカル) あるいは加齢、紫外線・放射線、大気汚染、薬物の長期服用、煙草の有害成分の吸入などにより生じ、脂質過酸化、遺伝子の損傷やタンパク質の変性等を引き起こし、動脈硬化、アルツハイマー病などの疾病の引き金になる。高齢化が加速するわが国において活性酸素やそれらの化学

種により引き起こされる生体内での酸化を分析する手段の構築は急務である。近年、ミトコンドリア DNA の病原性突然変異ががん細胞の転移を誘発していることが明らかになった。これは、mtDNA の突然変異がミトコンドリア呼吸活性を低下させ活性酸素種を大量に漏出することで転移に係る核遺伝子の発現を上昇させるためである。また、抗酸化剤で処理することで癌転移を抑制することも明らかにされている (Ishikawa ら

Science, 2008, 661.). このように、**ROS** の過剰生産が転移の原因である場合は、抗酸化剤がヒトの癌転移の治療に有効なようである。抗酸化剤の能力を計測する方法は数多く知られているが、溶液中での活性測定ではできなかった抗酸化剤の細胞膜透過性の差まで考慮する方法として、生細胞中に **ROS** 感受性蛍光プローブとラジカル開始剤を導入し **ROS** を発生させ、抗酸化剤の細胞内抗酸化活性(CAA)の測定法が報告されている。生細胞内で用いることのできる活性酸素感受性蛍光プローブは、Chang ら *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130, 9638., Nagano ら *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 10324., Nakagawa ら *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17, 2055., などいくつか報告されている。それらの蛍光プローブひとつであるジクロロフルオレセイン誘導体(DCFH-DA)を蛍光プローブとし、マウス肝癌由来 HepG2 細胞を用いた CAA 測定がある(Wolfe *et al. J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 8896.). DCFH-DA は、細胞内加水分解酵素により分解され、細胞質に留まる **ROS** 感受性蛍光プローブであるが、それらは少しずつ細胞外に漏れ出ることが知られている。また、Wolfe らの手法では DCFH とラジカルが細胞質中に分散することとラジカル開始剤がどこに存在するかが明らかでないことにより、**ROS** の発生と捕捉する場所が不確かなため、抗酸化剤(AO)がミトコンドリアで過剰に発生された **ROS** を他の細胞内微小器官に漏出させることなく消去する能力をもつのかどうかを知ることはできない。すなわち、既存の方法では、生細胞中で **ROS** の本来の発生源であるミトコンドリアへの抗酸化剤の移行する能力を観測できていない。(図 1 の上部)。



申請者は、ミトコンドリアに局在化する置換基であるトリフェニルホスホニウム塩を、過酸化物のみを捕捉する蛍光プローブ、ジフェニルピレニルホスフィン (DPPP) に結合させた **MitoDPPP** を開発した。**MitoDPPP** は、細胞内のミトコンドリアに局在化し、細胞内

に浸入した脂溶性過酸化物を捕捉して、ホスフィン部分が酸化を受けホスフィンオキシドになることにより、蛍光強度がおおよそ 35 倍程度増大する(図 2)。その様子を蛍光顕微鏡により観測することが可能であった。さらに、光毒性が弱く、光照射による劣化が少ない、しかも量子収率の良い蛍光性置換基(ペ

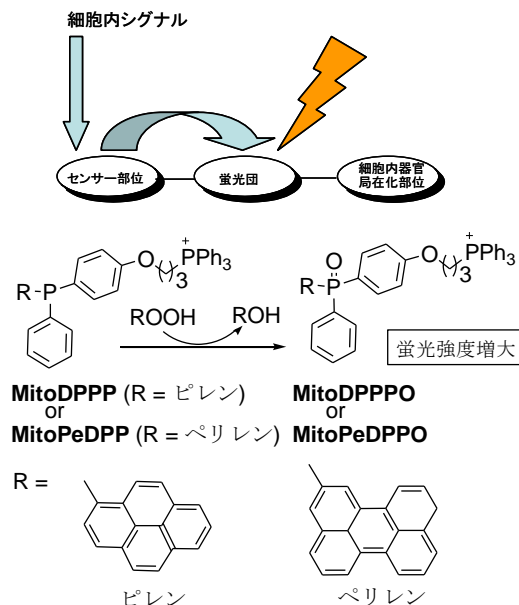


図 2 **MitoDPPP** および **MitoPeDPP** の反応性

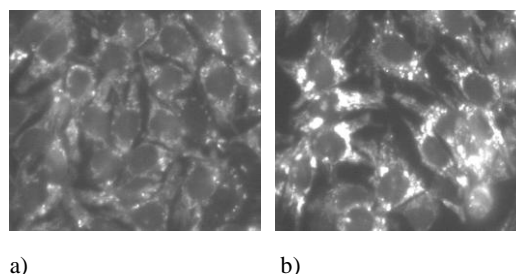


図 3 **MitoDPPP** を用いた HepG2 細胞中での脂質過酸化物 a) グルタミン酸添加直後 b) 添加後 24 時

リレニル基) を持つ過酸化物捕捉剤 (**MitoPeDPP**) についても収率よく合成している。さらにこれらの蛍光プローブは、細胞にグルタミン酸を添加することで生成するミトコンドリア膜中の脂質過酸化物を捕捉できることを見出した(図 3)。

4-ボラン 3a,3b-ジアザインダセン(BODIPY) は、測定系内の pH 依存性が低く、高い量子収率を有するとともに比較的合成が容易である。しかも、置換基変換により容易に励起、蛍光波長を変化させることが可能である。**MitoDPPP** (ex 351 nm, em 380 nm) や **MitoPeDPP** (ex 450 nm, em 480 nm) よりもさらに長波長側に励起、蛍光波長をもつ **ROS**

感受性蛍光プローブを合成し、抗酸化剤の CAA 測定を用いることで適応範囲の拡大が望める。

2. 研究の目的

研究期間内に申請者は、BODIPY 誘導体にセンサー部位として、過酸化剤感受性のあるジフェニルホスフィン基やすべての ROS に感受性を示す TEMPO 誘導体を導入した蛍光プローブを合成する。さらにミトコンドリアで過剰産生された ROS が種々の抗酸化剤存在下でも漏出するかを確認するために DNA に局在化する DAPI(ジアミジノインドール)に ROS 感受性部位を導入した蛍光プローブも合成し、細胞内で過剰産生される ROS に対する抗酸化剤の効果を見積もる方法を確立する。

3. 研究の方法

(1) ミトコンドリアに局在化する過酸化剤感受性 BODIPY 誘導体の合成

ホスフィン型プローブは、*p*-プロモベンズアルデヒドと 3-エチル 2,4-ジメチルピロールを酸触媒存在下で攪拌し、酸化の後、三フッ化ホウ素を添加しプロモベンゼンを有する BODIPY 誘導体をまず合成した。パラジウム触媒を用いてジフェニルホスフィンオキシドとのカップリングを行い、還元の後、ホスフィンボランとする。さらにマイクロ波照射下でホスホニウム塩を結合させる。塩基で処理し、目的とする化合物を得た。

(2) DNA に局在化する ROS 感受性 DAPI 誘導体の合成

DAPI 誘導体の合成法を以下に示す、シアノヨードベンゼンを出発物質として、ヨウ化亜鉛を用いたアルケニルアニリンからのインドールの合成法を応用してジシアノインドールを合成した。その後、インドールの 3 位をヨウ素化し、BODIPY 誘導体の合成と同様の方法でジフェニルホスフィンオキシドを導入し、ホスフィンボランとした後、シアノ基をアミジン化して目的の化合物を得た。同様の方法で DAPI の 3 位にボロン酸エステルを結合させたプローブの合成を行った。

(3) 合成した蛍光プローブの物性評価

得られた蛍光プローブの電子スペクトル測定および電気化学的特性を測定した。さらに水系溶媒に対する溶解度の測定および過酸化剤と ROS との反応性を有機溶媒中、水溶液にて測定を行った。

(4) 細胞内導入

DPPP などトリアリールホスフィン類は脂溶性が高く、水溶液への溶解度が極めて低いため、細胞内への導入が困難である。しかしながら、MitoDPPP の細胞内導入実験からもわかるように脂溶性カチオンを導入することで、細胞内導入が容易になり、細胞内での分散も極めて起こりにくいことから、トリアリール

ホスホニウム塩をもつ蛍光プローブは 1% DMSO 水溶液に溶解することが可能である。

(5) 蛍光プローブ局在化の検証

蛍光プローブの細胞内微小器官への局在化の検証は市販の細胞内微小器官染色試薬 (MitoRed や DRAQ5 など) と二重染色し蛍光顕微鏡観察を行った。

(6) ROS 感受性の確認

① 過酸化剤感受性の確認：それぞれの蛍光プローブを導入した細胞 (HepG2) に数種の過酸化剤を添加し、蛍光顕微鏡観察を行うことで、外部から細胞内へ浸入した過酸化剤に対する感受性を確認した。

② 外的因子により細胞内に発生した過酸化剤への感受性の確認：蛍光プローブを導入した細胞をスライドガラスに貼り付け石英セルに挿入し、その後、2,2-アザビス(2-メチルプロピオンアミノ)ジヒドロクロリド (AAPH) の溶液を加え、37°C に加温し、細胞内に過酸化剤を発生させ、蛍光プローブが酸化されることで増加する蛍光スペクトルを蛍光顕微鏡によって顕微分光測定を行った。

③ 過酸化水素消去機構阻害により発生する ROS への感受性の確認：それぞれの蛍光プローブを導入した細胞 (HepG2 およびマウスメラノーマ細胞) に過剰量のグルタミン酸を添加し、細胞内抗酸化剤のひとつであるグルタチオンの生成を阻害することで脂質過酸化を誘発させ蛍光プローブが酸化を受ける。その様子を蛍光顕微鏡により観察し、経時変化を蛍光分光光度計にて観察する。また、DNA に局在化する蛍光プローブを導入した細胞を用いて抗酸化剤存在下でのミトコンドリアからの ROS の漏出を確認した。

(7) CAA の測定系の確立

アスコルビン酸およびその脂溶性誘導体抗酸化剤存在下で行い、それによる蛍光強度の増加率の経時変化を分光光度計により測定する。抗酸化剤添加の有無で得られるそれぞれの蛍光強度を比較することで、抗酸化剤のミトコンドリアへの移行能を評価した。

4. 研究成果

細胞内抗酸化活性測定法を確立するため、これまでに合成したミトコンドリアに局在化する過酸化脂質感受性蛍光プローブを用い、ミトコンドリア内部で起こる脂質過酸化の形成を新たに合成した新規のアスコルビン酸誘導体がどれほど抑制するかを見積もった。まず MitoPeDPP の細胞内挙動の観察には、顕微鏡技術と分光法を組み合わせることで、生体試料の位置や形状などの情報を維持したまま蛍光スペクトルを得ることができると顕微分光法を用いた。HepG2 細胞に MitoPeDPP の蛍光体である MitoPeDPP0 をロードし、蛍光顕微鏡による観察を行なった。次に、励起光照射範囲を細く絞り、回折格子を

用いて分光した。その結果、得られた蛍光スペクトルの蛍光極大は、MitoPeDPP0の蛍光極大とほぼ一致していることがわかった(図4)。すなわち、この手法を用いることで、細胞内におけるMitoPeDPPの蛍光強度を測定できると考えられる。

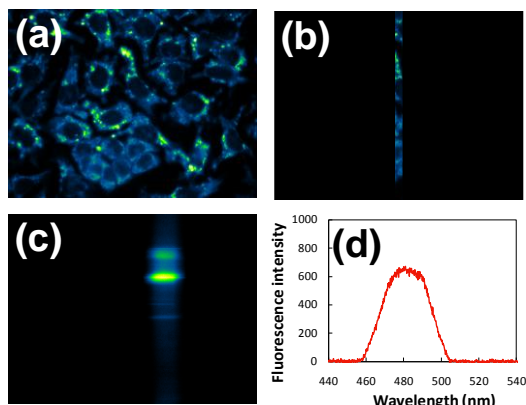


図4 顕微分光法を用いたMitoPeDPP0の観察 (a) MitoPeDPP0 (1.6 μ M)で染色したHepG2細胞の蛍光顕微鏡画像 (b) (a)の入射スリットを狭めた時の蛍光顕微鏡画像 (c) (b)を回折格子により分光した時の蛍光顕微鏡画像 (d) 算出した蛍光スペクトル

次に、顕微分光法を用いて、HepG2細胞内に外部導入したラジカル開始剤から生じるROSに対するMitoPeDPPの反応性を観測できるかを試験した。2, 2'-アゾビス 2-アミジノプロパン(AAPH)を利用した。MitoPeDPP (1.6 μ M)をロードしたHepG2細胞にAAPH (250 μ M)を添加し、蛍光顕微鏡による観察を行なったところ、添加1h後に蛍光強度の増大が観られた。また、AAPH添加1h後の蛍光スペクトルを顕微分光法により算出したところ、AAPHを添加する前に比べ蛍光強度が約4倍増大していた。さらに、AAPH添加1時間後においてもプローブがミトコンドリアに局在化していることを確かめるため、MitoRedとの2重染色を行なった。AAPH添加1h後にMitoRedをロードしMitoPeDPPの蛍光顕微鏡画像と比較したところ、2つ画像はほぼ重なり合うことがわかった。外部導入したROSに対するMitoPeDPPの反応性を顕微分光法にて観測できることがわかったため、抗酸化剤の添加がMitoPeDPPの蛍光強度の増大を抑制するかを調べることにした。抗酸化剤には、ミトコンドリアに局在化するアスコルビン酸誘導体を用いた。MitoPeDPPと抗酸化剤を細胞にロードし、AAPHを添加しROSを発生させた。抗酸化剤を添加しなかった時とは対照的に、AAPH添加前と添加1時間後の蛍光顕微鏡画像に差は見られなかった。さらに、顕微分光法により算出した蛍光スペクトルを比較した場合にも、蛍光強度の増大はほとんどみられなかった。その要因としてミトコ

ンドリアに到達したROSがMitoPeDPPと反応する前に抗酸化剤によって除去されたことが考えられる。これらの結果は、ミトコンドリアに局在化する抗酸化剤がラジカル源を効率よく消去したことを示している。

また、ミトコンドリアから発生するROSへのMitoPeDPPの反応性を顕微分光法によって観察できるかを試験した。MitoPeDPP (1.6 μ M)をロードしたHepG2細胞にグルタミン酸ナトリウム(1 mM)を添加し、蛍光顕微鏡による観察を行なったところ、添加20h後に蛍光強度の増大が観られた。さらに、顕微分光法により蛍光スペクトルを算出したところ、蛍光強度が約7倍に増大していることがわかった。グルタミン酸刺激により細胞内で除去されなくなったROSとMitoPeDPPが反応し、蛍光強度の増大が観られたと考えられる。これらの結果は、ミトコンドリアを発生源とするROSとMitoPeDPPの反応性を顕微分光法により観測できることを示している。ヒト肝ガン由来のHepG2細胞にMitoPeDPPをロードし、抗酸化剤を添加した。グルタミン酸刺激を与えた直後の蛍光強度と20h後の蛍光強度を顕微分光法を用いて測定した。抗酸化剤には、アスコルビン酸ならびにアスコルビン酸誘導体を用いた。水溶性が高いアスコルビン酸はコントロールと比較すると蛍光強度にほとんど変化はなくミトコンドリアでの抗酸化能を示さないことがわかった。また、脂溶性アスコルビン酸誘導体は蛍光強度増大の抑制がみられた。これは、膜透過性が向上したことによりミトコンドリア内に侵入できたことが要因であると考えられる。以上の結果より本測定法は抗酸化剤の細胞内での分子動態も評価できることが実証された。

可視光領域に吸収をもつ抗酸化剤に対してもその細胞内抗酸化能の測定を可能にするため、近赤外領域に蛍光波長をもつミトコンドリア局在型の過酸化脂質感受性蛍光プローブの合成を行った。はじめに、過酸化脂質センサーとしてトリアリールホスフィン基をもつプローブの合成を行ったところ、目的とする蛍光プローブは過氧化物と反応してもわずかな蛍光強度の増加に留まった。そこで、BODIPY共役平面内にトリアリールホスフィン基を2個有するプローブの合成を全7段階で行った(図5)。本化合物の蛍光波長は685nmにあり、望みの蛍光波長を有していることが明らかとなった。実際に細胞導入実験を行ったところその化合物のミトコンドリア局在性は我々が有するミトコンドリア局在型蛍光プローブのそれよりも低いことが明らかとなった。その原因として、本化合物の水溶性が低いこと、ならびに本化合物が有する脂溶性・親水性のバランスがミトコンドリア膜に局在するのに適当でないことが危惧される。細胞導入

方法の工夫などが必要である。

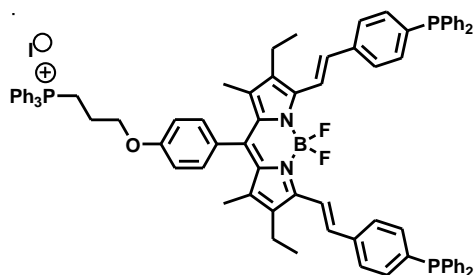


図 5

次に、DNA に局在化する ROS 感受性 DAPI 誘導体の合成：当初予定していたトリアリールホスフィンセンサーとして有する DAPI 誘導体は合成の困難さと化合物の安定性の低さからセンサー部位をボロン酸エステルに変更した。DNA 染色剤として知られる DAPI に過酸化水素感受性のあるボロン酸エステル部位を結合させた蛍光プローブを 3 位がヨウ素化された DAPI より合成した (図 6)。得られた化合物は DNA と会合すると蛍光強度が増大し過酸化水素と反応することで蛍光強度が低下することがわかった。いわゆる ON-OFF 型の蛍光プローブで、遺伝子導入を必要とせず、核外で生成した過酸化水素が DNA 近傍に侵入すると蛍光強度が次第に低下するプローブの開発に成功した。実際の細胞実験を行うと本化合物の核内への侵入が確認できた。しかしながら、本化合物が導入された生細胞の活性に明らかな低下が見られた。今後、細胞導入方法等も含めて検討する必要がある。

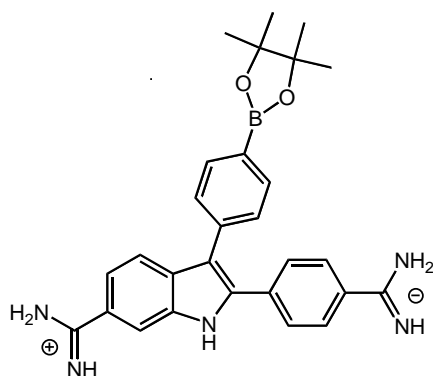


図 6

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

(1) K. Okuma, R. Itoyama, A. Sou, N. Nagahora, K. Shioji, Tandem Carbon-Carbon Bond Insertion and Intramolecular aldol Reaction of Benzyne with Aroylacetones: *Chem. Commun.* 2012, 48, 11145-11147. DOI: 10.1039/C2CC36128K 査読有

(2) K. Okuma, K. Munakata, T. Tsubota, M. Kanto, N. Nagahora, K. Shioji, Y. Yokomori, Synthesis and Reaction of Tricyclic

Tetrathiins and Pentathiepins: Novel Formation of α -Disulfines *Tetrahedron*, 2012, 68, 6211-6217. DOI: 10.1016/j.tet.2012.05.069. 査読有

(3) Morita H.; Ando S.; Okuma K.; Nagahora N.; Aizawa Y.; Fukuda M.; Nakagawa H.; Shioji K. Intracellular molecular dynamics of N-terminal motif of myristoylated peptide, *Peptide Science*, 309-312 (2011). 査読有

(4) K. Okuma, A. Nojima, Y. Nakamura, N. Matsunaga, N. Nagahora, K. Shioji, Reaction of benzyne with formamides and acetylimidazole, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2011, 84, (3) 328-332. DOI: 10.1246/bcsj.20100266 査読有

(5) K. Okuma, N. Matsunaga, N. Nagahora, K. Shioji, Y. Yokomori, Reaction of Arynes with Amino Acid Esters, *Chem. Commun.* 2011, 47(20), 5822-5824. DOI: 10.1039/C1CC11234A 査読有

(6) K. Okuma, S. Ozaki, N. Nagahora, K. Shioji, Synthesis of 3,1-Benzothiazines from 2-Alkenyl- and 2-Alkynylanilides and Lawesson Reagent, *Heterocycles*, 2011, 83, 1303-1313. DOI: 10.3987/COM-11-12180 査読有

(7) K. Okuma, T. Tsubota, M. Tabuchi, M. Kanto, N. Nagahora, K. Shioji, Y. Yokomori, Reaction of thiocamphor with disulfur dichloride. Novel formation of α -disulfine, *Chem. Lett.* 2010, 39(6), 648-649. DOI:10.1246/cl.2010.648 査読有

(8) K. Okuma, S. Ozaki, J. Seto, N. Nagahora, K. Shioji, A highly effective one-pot synthesis of quinolines from 2-alkynyl nitrobenzenes, *Heterocycles* 2010, 81(4), 935-942. DOI: 10.3987/COM-09-11890 査読有

(9) K. Okuma, Kentaro, J. Seto, N. Nagahora, K. Shioji, Chemoselective synthesis of quinoline *N*-oxides from 3-(2-nitrophenyl)-3-hydroxypropanones, *J. Heterocycl. Chem.* 2010, 47, 1372-1378. DOI: 10.1002/jhet.485 査読有

(10) K. Okuma, Y. Fukuzaki, A. Nojima, A. Sou, H. Hino, N. Matsunaga, N. Nagahora, K. Shioji, Y. Yokomori, Three component reaction of arynes with cyclic ethers and active methines: synthesis of trichloroalkyl phenyl ethers. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2010, 83, 1238-1247. DOI: 10.1246/bcsj.20100062 査読有

(11) Shioji K.; Oyama Y.; Okuma K. and Nakagawa H. Synthesis and Properties of Fluorescence Probe for Detection of Peroxides in Mitochondria, *Bioorg. and Med.*

Chem. Lett. 20, 3911-3915 (2010). DOI.org/10.1016/j.bmcl.2010.05.017 査読有
(12) Hayashida, O.; Eguchi, C.; Kimura, K.; Oyama, Y.; Nakashima, T.; Shioji, K. Guest binding, cellular uptake, and molecular delivery of water-soluble cyclophanes having a pyrene moiety, *Chem. Lett.*, 39 (12): 1321-1322, 2010 DOI:10.1246/cl.2010.1321 査読有

(13) 塩路幸生・細胞内活性酸素種および関連する高活性化学種捕捉蛍光プローブ・福岡大学理学集報・40・261~266 (2010) 査読無

[学会発表] (計 13 件)

(1) 揚村雄・中川裕之・大熊健太郎・長洞記嘉・塩路幸生・過酸化水素を捕捉する DNA 局在化蛍光プローブの合成と性質・日本化学会第 93 会春季年会・2013 年 03 月・立命館大学びわこ・くさつキャンパス

(2) 岩崎春香・中川裕之・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・二量体 BODIPY 誘導体の合成とその細胞内挙動・2013 年 03 月 23 日・立命館大学びわこ・くさつキャンパス

(3) 小川裕也・安井伸郎・中川裕之・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・トリアリールホスフィンを有する蛍光性ホスホニウム塩の合成・2013 年 03 月 23 日・立命館大学びわこ・くさつキャンパス

(4) Kosei Shioji, Takahiro Matuki, Yuya Ogawa, Hiroyuki Nakagawa, Noriyoshi Nagahora, Kentaro Okuma・Synthesis and Properties of Peryrenylphosphonium Salts having Triphenylphosphine, International Conference on Heteroatom Chemistry, Kyoto, Japan, May 22,

(5) 諫山拓弥・中川裕之・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・BODIPY 骨格をもつ過酸化物感受性蛍光プローブの合成とその性質・日本化学会第 92 春季年会・2012 年 3 月 27 日・慶應義塾大学日吉キャンパス・矢上キャンパス

(6) 森田温可・安東勢津子・大熊健太郎・長洞記嘉・相澤康則・福田牧葉・中川裕之・塩路幸生・ミリストイル化を受けるペプチドを模倣した新規蛍光プローブの合成とその細胞内動態・日本化学会第 92 春季年会・2012 年 3 月 27 日・慶應義塾大学日吉キャンパス・矢上キャンパス

(7) 森田温可・安東勢津子・大熊健太郎・長洞記嘉・相澤康則・福田牧葉・中川裕之・塩路幸生・ミリストイル化ペプチドの N 末端モチーフの細胞内動態・第 48 回ペプチド討論会・2011 年 9 月 27 日・札幌コンベンションセンター

(8) 岩崎春香・高須優・長洞記嘉・大熊健太郎・中川裕之・塩路幸生・ベンゼン環をスパーサーとする二量体 BODIPY 誘導体の合成とその細胞挙動・第 48 回化学関連支部合同九州大会および外国人研究者交流国際シンポジウム・2011 年 7 月 9

日・北九州国際会議場

(9) 諫山拓弥・中川裕之・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・ミトコンドリアに局在化する過酸化物感受性蛍光プローブを用いた細胞内抗酸化活性の評価・第 91 回日本化学会春季年会・2011 年 3 月 28 日・神奈川大学横浜キャンパス

(10) K. Shioji; Y. Nakano; C. Sadahira; T. Matsuki; N. Nagahora; K. Okuma; H. Nakagawa・Synthesis and properties of pH responsive fluorescent probe based on the BODIPY moiety・2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010)・2010 年 12 月 19 日・ハワイ (USA)

(11) 松木貴洋・中野友理子・貞平千春・中川裕之・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・BODIPY 骨格を有する pH 応答性蛍光プローブによる細胞内 pH 観測・第 47 回化学関連支部合同九州大会・2010 年 7 月 10 日・北九州国際会議場

(12) 原田大輔・諫山拓弥・中川裕之・田中英彦・長洞記嘉・大熊健太郎・塩路幸生・ミトコンドリアに局在化する脂質過酸化物感受性蛍光プローブを用いた細胞内抗酸化能の測定第 47 回化学関連支部合同九州大会・2010 年 7 月 10 日・北九州国際会議場

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：
○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：
[その他]
ホームページ等
なし

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
塩路 幸生 (SHIOJI KOSEI)
福岡大学・理学部・准教授
研究者番号：80291839
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし