

## 28PE-am009

ジヒドロローダミン123を用いたフリーラジカル・活性酸素種の分析法の開発  
○久保 光志<sup>1</sup>, 荒井 健介<sup>1</sup>, 久保 博昭<sup>2</sup>, 吉村 吉博<sup>1</sup>(<sup>1</sup>日本薬大, <sup>2</sup>北里大薬)

【目的】生体内のフリーラジカルや活性酸素種は種々の疾病に関与しており、フリーラジカルや活性酸素種を検出することは疾患の早期発見や病態の変化に応用できる。フリーラジカルや活性酸素種を検出する簡便な方法として吸光試薬を用いた吸光光度法が用いられているが、感度が低いため生体試料を用いた微量分析の応用には困難である。そこで、今回フリーラジカルや活性酸素種を一斉に検出することができる蛍光試薬であるジヒドロローダミン 123 (DHR) を用いて検討を行った。

【方法】活性酸素種の1つとしてリノレインヒドロペルオキシドを用い、DHR との反応を蛍光光度法により検討した。緩衝液の pH (4~7) やアルコキシルラジカルの生成を目的とした硫酸アンモニウム鉄 (II) などの諸条件を検討した。さらに、活性酸素種である過酸化水素や *tert*-ブチルヒドロペルオキシドとの反応も検討した。

【結果】リノレインヒドロペルオキシドと DHR との反応における蛍光極大波長は、励起 501 nm、蛍光 525 nm であった。アルコキシルラジカルと DHR との反応における条件検討を行った結果、pH 6 での蛍光強度が最も高かった。リノレインヒドロペルオキシドとアルコキシルラジカルを比較するとアルコキシルラジカルと DHR との反応における蛍光強度の方が強かった。アルコキシルラジカルの検出は、吸光試薬である *N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (DMPD) を用いた吸光光度法よりも感度よく検出できた。