

## 27Q-am008

ジヒドロローダミン 123 を用いた活性酸素種、過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルの簡易分析法の開発

○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>いわき明星大薬)

【目的】生体内の活性酸素種、過酸化物およびフリーラジカルは種々の疾病に関与している。その活性酸素種、過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルの生成量をまとめて検出できれば疾病の診断に応用することが期待される。従来、活性酸素種、過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルをまとめて検出する方法は開発されているが、感度が低く、さらに測定時間が 30 分以上かかるため生体中の活性酸素種、過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルの簡易微量分析への応用は困難であった。今回、蛍光試薬であるジヒドロローダミン 123 (DHR) を用いて過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルを一斉に検出する方法を検討し、ヒト血清中の過酸化物および過酸化物由来のフリーラジカルの簡易分析への応用を行った。

【方法】過酸化物の標準品としてリノレ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。測定条件として、緩衝液の pH (3~7) などの諸条件を検討した。さらに、ヒト血清への応用を試みた。

【結果】リノレンヒドロペルオキシドと DHR との反応における生成物の励起および蛍光極大波長は、それぞれ 501 nm、525 nm であった。リノレンヒドロペルオキシドと DHR との反応における条件検討を行った結果、pH 4.2 での蛍光強度が最も高かった。さらに 0.1 M 塩化ナトリウムを加えると反応開始後 10 分後に測定することができた。リノレンヒドロペルオキシドを用いた検量線では、3.4~30  $\mu\text{M}$  の間で良好な直線性が得られ、ヒト血清を用いた添加回収率 (n=4) は  $135 \pm 19\%$  であった。ヒト血清 (n=3) に応用したところ過酸化物の濃度は  $28.0 \pm 0.5 \mu\text{M}$  であった。