

# 非特異的吸着物の除去が可能なペプチド固定化酸化チタン基板の開発

柿原 晃太郎\*・片山 佳樹\*\*・園田 達彦

Development of peptide-immobilized titanium oxide plate capable of removing nonspecific adsorbates.

Kotaro KAKIHARA, Yoshiki KATAYAMA, and Tatsuhiko SONODA

## Abstract

Surface modification on peptide array plate with titanium oxide(TiO<sub>2</sub>) was studied to improve the resolution of detection of protein kinase activity. Titanium oxide plate and titanium oxide/silicon dioxide bi-layer plate were prepared by sol-gel method. Both of the plates showed photoinduced superhydrophilization effect by ultraviolet irradiation although the TiO<sub>2</sub> plate largely lost the effect in 2-4 days, indicating that SiO<sub>2</sub> layer played an important role to maintain the effect. Furthermore, treatment with a silencing coupling agent (3-aminopropyl triethoxysilane) on a TiO<sub>2</sub> plate was carried out to introduce amino groups. The fluorescent binding to amino groups was observed on the plate by microarray scanner, suggesting that this method would be useful to immobilize substrate peptides on the surface of TiO<sub>2</sub> plates.

**Key words:** Analytical chemistry, Titanium oxide plate, Peptide,

## 1. 諸言

生物が生き続けるためには外界の変化に適応する必要がある<sup>(1)</sup>。多細胞生物が外界の変化に対応するためには、各細胞による変化に対する直接的な反応だけでなく、生物として統一のとれた反応や、内部恒常性維持のための細胞間の情報のやり取りが重要になってくる。多細胞生物では個体全体として統一のとれた合目的な反応をしたり、内部環境を保ったりするために、オートクリン型、パラクリン型、エンドクリン型という方法で細胞間の情報のやり取りを行う。こうしたやり取りを細胞間のシグナル伝達と呼び、特に受容体以降の細胞内のシグナルの流れは細胞内シグナル伝達といわれる。

細胞内シグナル伝達機構には様々な化学物質やタンパク質が関わっているが、その中でも生体内化学反応の触媒である酵素が特に重要な役割を担っている。酵素は個々の細胞における遺伝子発現により産生され、その基質特異性から様々なタンパク質の化学反応を精密に触媒する<sup>(2)</sup>。

タンパク質リン酸化酵素 (Protein Kinase, PK) は、細胞内リン酸化シグナル伝達において重要な役割を担う酵素であり、タンパク質リン酸化反応を触媒している<sup>(3)</sup>。タンパク質リン酸化反応とは、PKの触媒作用によって、基質タンパク質のセリン、スレオニン、及びチロシン残基の側鎖ヒドロキシ基に、アデノシン-3-リン酸 (ATP) のγ位のリン酸基が転位する反応のことである<sup>(4)</sup>。この反応によって、タンパク質の構造変化が誘起され、タンパク質の活性状態が活性化あるいは不活性化される。この活性状態の変化をシグナル伝達のスイッチとして利用することで、細胞内へのシグナル伝達が行われる。タンパク質リン酸化反応は、酵素反応であるため反応が非常に速く、また脱リン酸化による可逆的反応であることから、シグナル伝達において、非

常に有効な手段であり、酵素活性の調節や複合体形成のきっかけになるなど様々な局面で利用される<sup>(4)</sup>。

PKはヒトにおいて約200種類存在すると云われ、各々が様々な細胞機能に関与している。

例えば、PKの中でも最も研究されている酵素の一つであるProtein Kinase A (PKA)は細胞内のサイクリックAMPによって活性化され遺伝子発現や細胞増殖などに関与している<sup>(3)</sup>。細胞内のシグナル伝達経路は相互に複雑に絡み合い、伝達経路間のクロストークによって、1種類のキナーゼが様々な細胞機能に関与することが出来る。従って、PKの活性異常は様々な疾病の原因となる。そこで細胞内PK活性のモニタリングが可能になれば、疾患の診断、治療への応用が可能になると期待される。ただし、シグナル伝達経路は複雑に相互作用しているため、単一のPK活性ではなくリン酸化シグナル全体の網羅的な解析が必要である。

PKの活性を一度に多くの種類について解析する、すなわち多種のタンパク質リン酸化反応を一度にモニタリングするためには、一つの反応場に多数のPKの反応サイトを配置する必要がある。PKは特定のアミノ酸配列を認識し、その配列を含むタンパク質をリン酸化する。そして、認識部位さえあれば最小限の配列へと最適化したペプチドに対しても機能する。このペプチドはPKの良好な基質であり、化学的手法にて比較的容易に合成することができる。このペプチドを利用したリン酸化シグナルの網羅的解析法として、ペプチドアレイを用いた手法が注目されている<sup>(5)</sup>。

Fig. 1-2にペプチドアレイによる細胞内リン酸化シグナル網羅的解析の概念図を示す。ペプチドアレイとは、プロテインキナーゼの基質となり得る様々なペプチドを基板上に固定化したものである。このペプチドアレイに細胞破碎液を添加することで、細胞

\*専攻科物質化学工学専攻 2年

\*\*九州大学大学院応用化学部門

中のキナーゼが活性に応じて作用しアレイ上のペプチドがリン酸化される。続いて、このアレイを蛍光標識したリン酸基認識試薬（蛍光標識抗アミノ酸抗体またはリン酸基に結合するビオチンラベル化低分子キレート化合物<sup>(6)</sup>と蛍光標識アビジンなど）で処理することで、リン酸化されたペプチド部分を蛍光標識物質が認識し、蛍光イメージ像としてリン酸化パターンが得られる。このパターンを様々な細胞液で処理したペプチドアレイと比較することでプロテインキナーゼの活性化状態を把握することができる。また、異常細胞の破碎液を作用させ得られたリン酸化パターンが、薬理活性を持つ可能性がある化合物や未知遺伝子を異常細胞に投与することで、正常細胞のリン酸化パターンへと変化すれば、使用された物質を薬物候補として絞り込むことができる。すなわち、この技術は創薬における 1 次スクリーニングへの応用が期待できる。また、正常細胞のリン酸化パターンと検体細胞のリン酸化パターンとを比較することによって疾患の早期診断にも利用できると考えられる。

このような利点を有するペプチドアレイであるが、実現に向けてはまだ多くの課題が残されている。そ

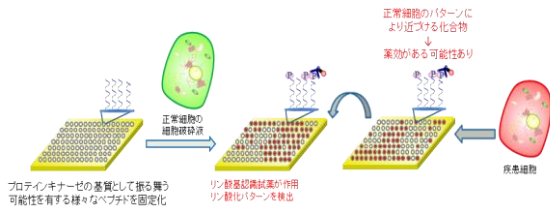


Fig. 1-2 ペプチドアレイを用いた細胞内リン酸化シグナル網羅的解析の概念図

の一つとして、次の課題が挙げられる。これまでペプチドアレイの基板にはガラス基板や金基板が用いられてきたが<sup>(5)</sup>、非特異的吸着物が吸着することで、リン酸化シグナル検出の際に偽陽性・偽陰性シグナルが発生し、正確な解析を困難にしているという問題点がある。この問題を解決するために、我々は建築用外装材や道路資材、生活用品に利用されている酸化チタンに着目した。

酸化チタンは紫外線を吸収することで、2 つの特徴的な光触媒能を発現する<sup>(7)</sup>。紫外線照射により強い酸化力によって表面の有機物を分解する光酸化作用、そしてもう一つは、紫外線照射によって表面が超親水性（水の接触角が 0° に近づく）になる光誘起超親水化現象である。光誘起超親水化現象が発現すると、水が基板と非常になじむため、基板上に付着した吸着物が浮き上がり、水洗によって除去が可能になる。この 2 つの現象により、酸化チタンは多くの有機物を分解、除去できる。これをペプチドアレイに応用すれば、基板上の非特異的吸着物の除去が可能になると期待できる。

しかし、高強度の紫外線を照射した場合に発現する光酸化作用は、基板上の非特異的吸着物のみなら

ず、固定化したペプチドまでもを分解する恐れがある。一方、光誘起超親水化現象は比較的低強度の紫外線でも発現するため、ペプチドアレイ上に固定化したペプチドの分解を心配することなく非特異的吸着物の除去に利用できると考えた。

ここで、光誘起超親水化現象の発現メカニズムについて概説する (Fig. 1-3)<sup>(8,9)</sup>。酸化チタン表面には酸素欠陥が存在し、水酸基がその欠陥に配位している (A)。紫外線を酸化チタンに照射すると、バンドギャップを乗り越えて励起した電子によって正孔 (ホール) が生成する。表面に吸着した酸素分子に励起した電子がトラップされ、表面の格子酸素に電荷分離された正孔がトラップされる (B)。これにより、Ti-O 間の結合が緩み、個々の Ti に水酸基が配位するようになるため、表面水酸基密度が増加する (C)。このとき形成された表面水酸基は光照射前の酸素欠陥に配位していた水酸基に比べて低温で脱離するため、より熱力学的に不安定になっている。つまり、酸化チタン表面の表面自由エネルギーが光照射により増大し、光誘起超親水化現象が進行すると考えられている。また、超親水化現象を発現した酸化チタンを暗所に置くことで、熱力学的に不安定な再配列した表面水酸基が徐々に減少し、元の熱力学的に安定な酸素欠陥に配位した水酸基が増加する。

この光誘起超親水化現象を利用して、近紫外光をペプチドアレイに照射し、親水性表面を形成した後、洗浄することで、非特異的吸着物の除去が可能になると期待される。

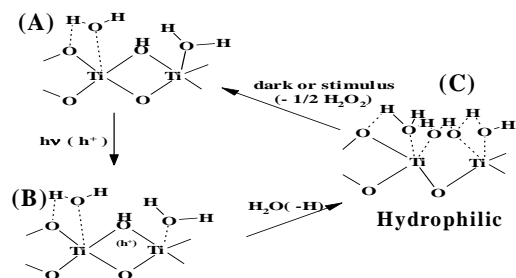


Fig. 1-3 光誘起超親水化現象のメカニズム

我々は、ペプチドアレイを用いた細胞内リン酸化シグナル網羅的解析手法を利用することで、創薬における 1 次スクリーニングに適用することを最終的な目標として研究を行っている。これによって、新規薬物の絞り込みが簡便化され、開発コストの削減、及び開発期間の短縮が可能になると期待される。加えて、疾患の早期診断への応用も可能である。

本論文では、細胞内リン酸化シグナル網羅的解析法の問題点である、基板表面への非特異的吸着物による偽陽性シグナルの発生を抑制するペプチドアレイの開発について、及び酸化チタン基板への基質ペプチドの固定化方法の検討について論ずる。

## 2. 実験方法

### 1. 酸化チタン基板の作製

16×16 mm に裁断した無蛍光ガラス基板 (MICRO SLIDE GLASS 白縁磨 No.2, MATSUNAMI) を中性洗剤、超純水、アセトン、イソプロパノールの順にそれぞれ 10 分間の超音波洗浄を二回ずつ行い、その後風乾した。薄膜の形成には、ゾルゲル法を用いた<sup>(10)</sup>。チタンテトライソプロポキシド (TPT) 3.67 ml、アセチルアセトン (acac) 1.30 ml を 25 ml メスフラスコにとり、イソプロパノールを標線まで加え酸化チタン (以下  $\text{TiO}_2$  と表記) の前駆体溶液を調製した (なお、TPT 及び acac の濃度はいずれも 0.5 M である)。

調製した前駆体溶液 500  $\mu\text{l}$  に超純水 5.85  $\mu\text{l}$  を添加し<sup>(11)</sup>、ボルテックスミキサーにて混合した。その後、混合した溶液 80  $\mu\text{l}$  をスピコーター (K-359 S-1, 株式会社共和理研) にて、洗浄処理後の無蛍光ガラス基板に 5000 rpm、10 秒の条件でスピコートし、電気炉 (Model 1400, サーモライン社) にて、723 K で 30 分間焼成を行うことで  $\text{TiO}_2$  基板を得た。

### 2. 酸化チタン基板 / 二酸化ケイ素基板の作製

これまでの研究で、 $\text{TiO}_2$  基板作製後から時間が経過するにつれ、紫外線照射による超親水化現象が発現しなくなることが分かった。そこで、無蛍光ガラス基板による酸化チタン膜への影響を防ぐために、酸化チタン / 二酸化ケイ素二層基板を作製した。

薄膜の形成にはゾルゲル法を用いた。オルトケイ酸テトラエチル (TPOS) 2.85 ml、アセチルアセトン (acac) 1.30 ml を 25 ml メスフラスコにとり、エタノールを標線まで加え、二酸化ケイ素 (以下  $\text{SiO}_2$  と表記) 前駆体溶液を調製した (なお、TPOS 及び acac の濃度はいずれも 0.5 M である)。調製した前駆体溶液 500  $\mu\text{l}$  に超純水 5.85  $\mu\text{l}$  を添加しボルテックスミキサーにて混合した。その後、混合した溶液 80  $\mu\text{l}$  をスピコーターにて、洗浄処理後の無蛍光ガラスに 5000 rpm、10 秒の条件でスピコートし、電気炉にて、723 K で 30 分間焼成を行うことで  $\text{SiO}_2$  基板を得た。

続いて、2-1 節で論じた同様の処理を先ほど作製した  $\text{SiO}_2$  基板に施すことで、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板を得た。

### 3. $\text{TiO}_2$ 基板表面、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$ 基板表面の濡れ性評価

本研究で開発を目指しているペプチドアレイは、細胞破碎液添加後、紫外線照射にて誘起される超親水化現象によってアレイ表面に付着した非特異的吸着物を洗浄除去する。そこで、酸化チタン基板の濡れ性を評価するために、 $\text{TiO}_2$  基板表面及び、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板表面における水の接触角測定を行った。

はじめに、 $\text{TiO}_2$  基板、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板で光誘起超親水化現象が発現するかどうかの確認を行った。2-1 及び 2-2 節で記した方法で作製した  $\text{TiO}_2$  基板、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板に真上から紫外線 (波長 365 nm、強度 500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) を照射した。その後、基板表面における水の接触角を測定し、予め測定した紫外線照射前における水の接触角と比較した。なお、紫外線の光源にはブラックライト (SLUV-4、アズワン(株)) を、接触角測定には接触角計 (LSE-ME1, Nick 社) を用いた。

### 4. 基板への基質ペプチドの固定化

基板へのペプチドの固定化方法として、シランカップリング剤である 3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) を用いて酸化チタン基板表面にアミノ基を導入する方法を採用した。

APTES 50  $\mu\text{l}$  が  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  vol% の割合となるようエタノールと混合し、APTES 溶液を調製した。続いて、ゾルゲル法にて作製した  $\text{TiO}_2$  基板に、それぞれの溶液をスポッター (MicroCASTer 8-Pin System, Schleicher & Schuell 社) で 3 点ずつスポットし、物理吸着した APTES を除去するために、エタノール中にて 10 分間の超音波洗浄を 2 回行った。その後、密閉状態で一晩暗所に静置した。続いて、APTES に対して過剰量の蛍光物質 (TAMRA-SE) をアセトニトリルに溶かし、そのうちの 200  $\mu\text{l}$  を基板に展開した。アセトニトリルで基板の洗浄を行った後、基板の蛍光強度をアレイスキャナ (Scan Array Express) によって測定した。なお、TAMRA-SE とはスクシンイミド基を有しており、この部分がアミノ基と穏やかな条件で反応することで TAMRA がアミノ基に結合するので、アミノ基の存在を蛍光強度で確認できる。

## 3. 実験結果

### 1. $\text{TiO}_2$ 基板表面、 $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$ 基板表面における水の接触角測定結果

Tab. 3-1 に  $\text{TiO}_2$  基板表面、及び  $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板表面における紫外線照射前後での水の接触角測定の結果を示す。

Tab. 3-1  $\text{TiO}_2$  基板、及び  $\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$  基板表面における紫外線照射前後の水の接触角測定結果

照射時間 (min)	接触角/deg	
	$\text{TiO}_2$ 基板	$\text{TiO}_2 / \text{SiO}_2$ 基板
0	22.74 ± 0.60	16.20 ± 2.10
30	21.67 ± 1.19	12.93 ± 2.38
60	11.23 ± 2.81	12.40 ± 4.22
90	7.16 ± 1.08	7.78 ± 0.80

TiO<sub>2</sub> 基板、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板のいずれにおいても、照射時間の経過と共に接触角が減少し、90 分の紫外線照射によって 10° 以下となった。このことから、光誘起超親水化現象が発現していることが確認できる。

続いて、TiO<sub>2</sub> 基板、及び TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度を評価した。ただし、通常酸化チタン基板表面における水の接触角はロット間で差があることが多く、ロット間での評価が困難である。そこで、sakai らは基板表面の親水化速度を次のように定義して親水化速度を評価した<sup>(12)</sup>。

$$\text{親水化速度} = \frac{\text{水の接触角の逆数}}{\text{紫外線照射時間}}$$

このように定義することで、親水化速度は直線の傾きによって表され、ロット間の差に関係なく親水化速度を評価することができる。Fig.3-1 に TiO<sub>2</sub> 基板表面、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度を表すグラフを示す。

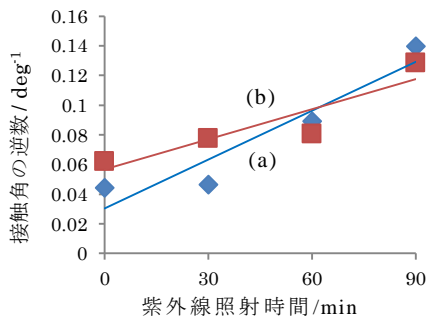


Fig.3-1 紫外線照射時の TiO<sub>2</sub> 基板表面、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度  
(a) TiO<sub>2</sub> 基板、(b) TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板

最小二乗法で求めた直線の傾きより、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板よりも TiO<sub>2</sub> 基板の方が親水化速度が速いことが分かった。現在のところ、この原因についてははっきりしないが、二層基板を作製するにあたって、TiO<sub>2</sub> 層、SiO<sub>2</sub> 層の膜厚を均一に保たなければならない。しかし、今回作製した TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板の膜厚が均一でなかったために、TiO<sub>2</sub> 基板表面と TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面において、親水化速度の違いが確認されたと考えられる。

続いて、TiO<sub>2</sub> 基板、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板作製後からどのくらいの時間まで光誘起超親水化現象が発現するのか確認を行った。Tab.3-2 に TiO<sub>2</sub> 基板表面、Tab.3-3 に TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面における水の接触角測定結果を示す。作製 1 日後は、紫外線照射前から超親水化現象が確認された。2 日後以降はいずれの基板でも紫外線照射により、基板表面の親水化が見られた。作製 4 日後の結果を比較すると、TiO<sub>2</sub> 基板では紫外線照射しても接触角はあまり減少せず、親水化現象の発現が確認できなかったのに対して、TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板では、照射時間に応じて水の接触角が低下した。このことから TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板は時間が経過しても光誘起超親水化能を保持していることが示された。

Tab.3-2 TiO<sub>2</sub> 基板表面の水の接触角測定

照射時間 (min)	接触角/deg		
	1 日後	2 日後	4 日後
0	8.35±0.41	20.05±1.54	26.46±1.10
30	4.16±0.47	14.55±1.01	19.87±0.30
60	6.92±0.40	11.67±0.88	17.08±0.41
90	7.76±0.47	10.17±0.26	19.53±0.29

Tab.3-3 TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の水の接触角測定

照射時間 (min)	接触角/deg		
	1 日後	2 日後	4 日後
0	7.18±0.57	12.35±0.38	22.85±0.50
30	5.36±0.46	11.38±0.43	19.45±0.53
60	5.45±0.39	10.18±0.64	15.64±0.79
90		9.12±0.40	11.29±0.46

また、時間経過が親水化速度に与える影響を調べた。Fig. 3-2 に紫外線照射時の TiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度を、Fig. 3-3 に TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度を示す。

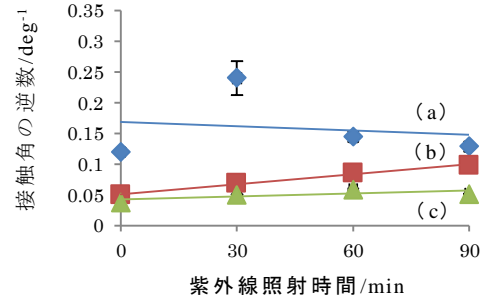


Fig.3-2 紫外線照射時の TiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度  
(a) 1 日後、(b) 2 日後、(c) 4 日後

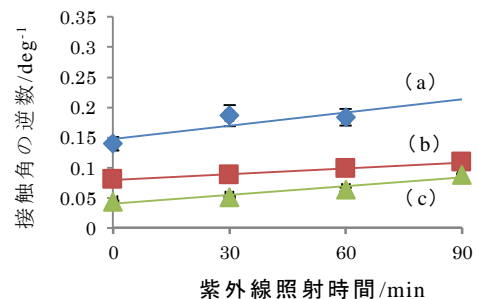


Fig.3-3 紫外線照射時の TiO<sub>2</sub> / SiO<sub>2</sub> 基板表面の親水化速度  
(a) 1 日後、(b) 2 日後、(c) 4 日後

それぞれの基板を比較すると、TiO<sub>2</sub> 基板の方は、2 日後と 4 日後で、直線の傾きが大きく減少した。

一方、 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  基板は 2 日後と 4 日後ではほぼ傾きは変化せず、速度が保たれており、このことから、 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  基板の方が  $\text{TiO}_2$  基板よりも、親水化機能が長く保持されることが示唆された。このような結果となった原因として、基板に用いたガラス基板中から  $\text{Na}$  イオンが  $\text{TiO}_2$  膜に拡散して  $\text{Na}_x\text{Ti}_y\text{O}_z$  が形成されたために親水化機能の減少が確認された可能性が挙げられる。 $\text{Na}_x\text{Ti}_y\text{O}_z$  層は、電子と正孔の再結合センターとして働き、光活性を著しく低下させることが報告されている<sup>(13)</sup>。 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  基板は、 $\text{TiO}_2$  層とガラス基板との間に  $\text{SiO}_2$  基板をプレコートしたために、 $\text{Na}$  イオンの拡散を防ぐことができ、親水機能が長く保持されたと考えられる。

## 2. 基板へのペプチド固定化方法の検討

APTES に対して過剰量の TAMRA-SE を含むアセトニトリル溶液を展開し、蛍光強度を測定した結果を Fig.3-4 に示す。かなり微弱ではあるが、白線で囲んだ部分に、等間隔に 3 点並んで蛍光を発する箇所が確認された。おそらく、もっとも濃い  $10^{-2}$  vol% の溶液をスポットした 3 点から発生された蛍光であると考えられ、今回検討した方法で酸化チタン基板へアミノ基の導入が行えることが示唆された。今回の実験では、蛍光物質を過剰に加えた結果、基板のバックグラウンド蛍光が強く検出されたため、図のように目的の蛍光が非常に微弱にしか検出されなかった。今後、測定条件の最適化を行っていく予定である。

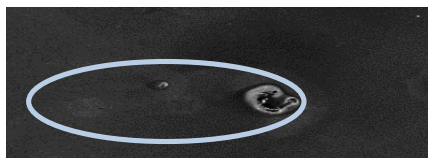


Fig.3-4 基板へのペプチド固定化方法の検討

## 4. 総括

$\text{TiO}_2$  基板と  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  基板の作製に、ゾルゲル法を利用して基板を作製した。また、紫外線照射前後における基板表面の水の接触角測定を行い、基板表面における濡れ性を評価した。その結果、いずれの基板でも 90 分間の紫外線照射によって光誘起超親水化現象の発現が確認された。親水化速度は  $\text{TiO}_2$  基板の方が高いことが分かった。一方、基板作製後からの時間経過が光誘起超親水化現象発現に与える影響を検証したところ、 $\text{TiO}_2$  基板では作製後 4 日経つと全く親水化が起こらなくなってしまったが、 $\text{SiO}_2$  膜を基板と  $\text{TiO}_2$  膜の間に挟むことで  $\text{TiO}_2$  の性質は保持されることが明らかとなった。これは、 $\text{TiO}_2$  膜へのガラス基板中の  $\text{Na}$  イオンの拡散を防ぐことが出来たことに起因すると考えられる。

$\text{TiO}_2$  基板へのペプチド固定化方法として、シランカップリング剤である 3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) を用いた  $\text{TiO}_2$  基板へのアミノ基の固定化を行った。微かに蛍光が確認され、この方法によって基板へのアミノ基の導入が行えることが示唆された。今後、最適条件の検討が必要である。

今後、 $\text{TiO}_2$  基板表面において、非特異的吸着物の洗浄除去がどの程度成されるかを検討することで、 $\text{TiO}_2$  基板の有用性が示されるであろう。また、より短い紫外線照射時間で光誘起超親水化現象を発現することが出来れば、アレイとしての  $\text{TiO}_2$  基板の汎用性が高まる。APTES を用いた  $\text{TiO}_2$  基板へのアミノ基の固定化を行ってペプチドアレイを作製し、On-chip リン酸化検出やリン酸化反応速度などの検討を行うことで、本手法の有用性が示されると期待される。

## 5. 謝辞

本報に記載した研究成果は、文部科学省科学研究費若手研究 (B) (24710137) の助成を受けた。ここに謝意を表す。

## 6. 文献

- 1) 東京大学生命科学教科書編集委員会, “理系総合のための生命科学”, 羊土社, 2007.
- 2) 奥忠武他, “生物有機化学入門”, 講談社サイエンティフィック, 2006.
- 3) 室伏きみ子他, “やさしい細胞の科学”, オーム社, 1999.
- 4) 西田栄介, 現代化学 (増刊) “シグナル伝達ネットワーク”, 東京化学同人, 2000.
- 5) 片山佳樹, DOJIN NEWS, 2004, 109, 8-12.
- 6) E.Kinoshita et al., Dalton Trans, 2004, 1189-1193.
- 7) 橋本和明他, “E-コンシヤス セラミックス材料”, 三共出版, 2010
- 8) 安保重一他, “最新光触媒技術”, エヌ・ティー・エス, 2002.
- 9) 坂井伸行他, “光触媒 基礎・材料開発・応用”, エヌ・ティー・エス, 2005.
- 10) 古南博他, DENKI KAGAKU, 1998, 10, 996-1003.
- 11) 橋本和仁他, “TiO2 光触媒のすべて—抗菌・防汚・空気浄化のために—”, シーエムシー出版, 1998.
- 12) N.Sakai et al., J.Phys.Chem.B, 2003, 107, 1028-1035.
- 13) Fujishima, A. ; Hashimoto, K. ; Watanabe, T. TiO2 PHOTOCATALYSIS. Tokyo, BKC, Inc. 1999

(2014 年 11 月 10 日 受理)