

O-ニトロベンゼンスルホンイルテトラフルオロフルオレセインの実用的スーパーオキシド蛍光プローブとしての特性評価

前田 初男¹, 山本 佳代子¹, 河野 伊保¹, ハフシ レイラ¹, 伊藤 徳夫¹ (¹ 阪大院薬)

【目的】 活性酸素種(ROS)と様々な疾病の関連が注目を集めており、ROS の機能解析には蛍光プローブを利用したバイオイメージング法が利用されてきた。我々は、bis(2,4-dinitrobenzenesulfonyl) tetrafluorofluorescein がスーパーオキシド(O_2^-) に特異的な蛍光プローブとして利用できることを既に報告している。しかし、これらは生体内に存在するグルタチオンや還元酵素系に対して、 O_2^- の約10% 程度の応答を示し、細胞レベルでの検出の妨害となる可能性がある。そこで、より O_2^- に特異的なプローブとして、**1** (Chart 1) を設計し、これらについて安定性、定量性および選択性を評価した。

【方法】 **1** の蛍光プローブ特性は、蛍光光度計および蛍光プレートリーダーを用いて評価した。**1** は 5 mM DMSO 溶液を緩衝液により 200 倍希釈して用いた。

【結果および考察】 Chart 1 に示すような様々な *O*-nitrobenzenesulfonyl 基で保護した **1** は、グルタチオンに対してほとんど応答せず、還元酵素系に対しても O_2^- の検出に影響を与えるような応答を示さなかった。さらに、 R_1 や R_3 として電子供与性基を導入すると、 $R_1 = R_2 = R_3 = H$ のプローブより安定性が増すことがわかった。中でも、 O_2^- 高特異的のプローブとしては $R_1 = R_2 = OMe$, $R_3 = H$ である **1** が最適であることが明らかとなった。このプローブを利用すると好中球が細胞外に産生・放出する O_2^- を高感度に検出でき、実用性を有するプローブであることも確認できた。

