

29P1-am085

イミノクマリンを母核に用いた波長変化型プローブの生体応用

○小松 兼介^{1,2}, 浦野 泰照^{1,3}, 長野 哲雄^{1,2} (¹東大院薬, ²JST CREST, ³JST さきがけ)

【目的】生体内の生理活性物質を生きたまま観測できる手法として、蛍光プローブ法が近年汎用されている。その中でも波長変化型蛍光プローブを用いたレシオイメージングは、色素の局在や濃度変化、褪色の影響を受けにくい点で優れている。筆者らはこれまでに、イミノクマリンが波長変化型蛍光プローブの母核として有用であること新たに見出し、長波長タイプの波長変化型 Zn^{2+} 蛍光プローブ ZnIC (Zn^{2+} sensor based on iminocoumarin) を開発することに成功した。イミノクマリンを用いることで、今後 Zn^{2+} だけでなく様々な波長変化型蛍光プローブの開発が期待できる。そこで今回は ZnIC を生体に応用し、レシオイメージングによってイミノクマリンの蛍光プローブの母核としての有用性を示すことを目的とした。

【結果および考察】まず ZnIC を培養細胞に応用した。プローブを細胞内に局在させた後、2種類の蛍光画像 (565-605 nm、510-550 nm) を取得することでレシオイメージングを行った。 Zn^{2+} のイオノフォアとキレーターを用いて細胞内の Zn^{2+} 濃度を変化させると、2つの波長のレシオ値もそれに伴い変化した。すなわち細胞内 Zn^{2+} の濃度変化をレシオイメージングによって検出可能であることが示された。続いて海馬スライスに応用した。スライス染色後のレシオイメージングによって、 Zn^{2+} は歯状回と CA3 の他に、CA1 でも検出されていることがわかった。さらに Zn^{2+} キレーターを加えたところ、レシオ値の減少が観測されたので、ZnIC は脳内の Zn^{2+} を検出していることが確認された。海馬に存在する Zn^{2+} のレシオイメージングに成功したのは今回が初めてである。以上の結果から、ZnIC が生体に応用可能であることが示され、本プローブが Zn^{2+} の動態を解明する非常に有力な手段になるだけでなく、イミノクマリンの蛍光プローブの母核としての有用性が示された。