

# 29P2-pm005

アザマクロ環状化合物を用いた硫化水素選択的蛍光プローブの開発

○篠倉 潔<sup>1</sup>, 花岡 健二郎<sup>1</sup>, 木村 英雄<sup>2</sup>, 長野 哲雄<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東大院薬,<sup>2</sup>精神・神経研究セ)

【目的】硫化水素 ( $H_2S$ ) は平滑筋の弛緩、神経伝達の調節などに関与することが近年明らかになりつつあり、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に次ぐ、第三のガス性情報伝達物質として注目を集めている。 $H_2S$  を選択的に検出する技術としてメチレンブルー法や  $H_2S$  選択的電極を用いた方法が現在広く用いられているが、これらの手法は生体サンプルを破碎することが必要となる。このため、 $H_2S$  の生理作用を詳細に解析する手段として、細胞内で機能する  $H_2S$  検出手法の開発が望まれていた。そこで我々は、細胞内で  $H_2S$  検出可能な蛍光プローブの開発を行った。

【方法・結果】 $H_2S$  選択的蛍光プローブを開発する際に越えなければならない課題は2点存在する。1 点目はチオール基を有する生体分子に対して十分な選択性を有することである。すなわち、細胞内には多量のグルタチオン (GSH、約 1- 10 mM) やシステイン (約 100  $\mu$ M) が存在していることから、これらの妨害を受けないプローブ設計が必要となる。また、2 点目は、 $H_2S$  に対する感度である。細胞内  $H_2S$  濃度に関しては議論の余地があるが、細胞外に加えて生理応答を引き起こす際の  $H_2S$  濃度は 10  $\mu$ M-1 mM であることが報告されている。そこで、10  $\mu$ M  $H_2S$  に応答し、10 mM GSH に応答しない蛍光プローブの開発を目指し、 $H_2S$  選択的反応部位として Cyclen-Cu<sup>2+</sup>複合体を有する fluorescein 誘導体 (HSip-1) を合成した。そして HSip-1 の選択性に関して精査した結果、HSip-1 は 10  $\mu$ M  $H_2S$  により蛍光上昇を示す一方で、10 mM GSH では殆ど蛍光上昇を示さなかった。また、GSH 以外のチオール (システイン、ホモシステインなど) の添加によっても蛍光強度上昇を示さなかった。さらに HSip-1 のジアセチル体である細胞膜透過型の HSip-1 DA を合成し、細胞内において  $H_2S$  を可視化することに成功した。