

28AB-am172S

生細胞における酸性小胞の pH 測定が可能な蛍光寿命イメージングプローブの開発
○國府田 絹子¹, 神谷 真子^{1,3}, 浦野 泰照^{1,2,4} (¹東大院医, ²東大院薬, ³JST さきがけ, ⁴AMED CREST)

【目的】 リソソームに代表される細胞内酸性小胞の pH は、その内部の酵素活性や蛋白機能を制御することが知られている。そのため、酸性小胞内の pH を正確に把握することは、がん・炎症性疾患等の病因解明や創薬を行う上で非常に重要である。しかしながら、従来までの pH 測定で用いられてきたレシオ型 pH プローブは、複数波長での励起・発光観測が必要であるため、色収差による測定誤差が課題であった。そこで今回我々は、pH 変化に伴い適切な蛍光寿命変化を示す一波長励起一波長蛍光型蛍光プローブの設計・開発を行った。また、上記プローブを用いた蛍光寿命イメージング (FLIM) 測定を行うことで、生きた細胞内の酸性小胞内 pH の測定が可能か検討を行った。

【方法・結果】 光誘起電子移動 (Photoinduced Electron Transfer; PeT) を動作原理として、pH に応じて蛍光寿命が変化するプローブの設計開発を行った。具体的には、pH 感受性の電子供与基である各種アニリンを種々の置換位置でローダミン骨格に導入した一連の誘導体を合成し、その特性を精査した。その結果、アニリン類の窒素上置換基及び蛍光団との距離によりその蛍光寿命特性が制御可能であることが明らかになった。その中でも特に、*N,N*-ジメチルアニリンを 5-TAMRA に導入した誘導体の pK_a を蛍光寿命測定から算出したところ、その値は 5.8 となり、酸性小胞内 pH の FLIM 測定に適した特性を有することが明らかになった。現在、本プローブを用いた FLIM 測定を実施しており、年会においては、生細胞における酸性小胞内 pH の定量評価結果に関しても発表予定である。