

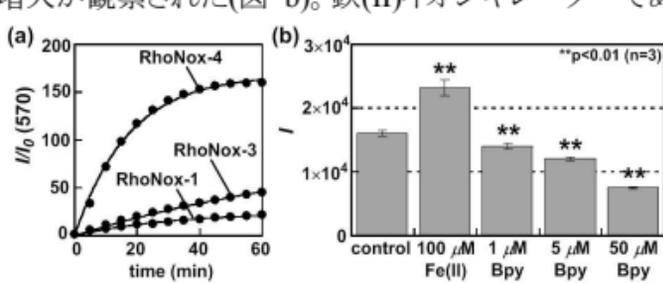
29R-pm06S

二価鉄イオン蛍光プローブの構造最適化と細胞内二価鉄イオン変動の可視化
○丹羽 正人¹, 平山 祐¹, 奥田 健介¹, 永澤 秀子¹ (¹岐阜薬大)

【目的】鉄は、生体内で最も多く存在する遷移金属元素であり、タンパク結合鉄として機能する一方、タンパク非結合型の鉄イオン（自由鉄）としても存在する。当研究室では、自由鉄の機能を解析するべく、その主成分である鉄(II)イオンを検出対象とした蛍光プローブ RhoNox-1 の開発に成功している。本研究では、鉄(II)イオンの検出感度向上を目的とし、プローブの構造展開を実施した。

【方法・結果】RhoNox-1 の鉄(II)イオン検出部位である diethylamine *N*-oxide を、環状の *N*-Acetyl-piperazine *N*-oxide へと変換した RhoNox-3 および *N*-Boc-piperazine *N*-oxide を有する RhoNox-4 をそれぞれ開発した。蛍光測定により、鉄(II)イオンに対する応答性を評価したところ、RhoNox-4 は反応前後の蛍光コントラストが大きく、反応速度も早く、最も優れたプローブであることがわかった(図 a)。また、ロドールを蛍光団として同様の置換基変換を行なった場合も同様の効果が認められた。続いて、RhoNox-4 を用いて生細胞イメージングを実施した。まず、鉄(II)イオンで処理した HepG2 細胞を RhoNox-4 で処理したところ、顕著な蛍光シグナルの増大が観察された(図 b)。鉄(II)イオンキレーターである

ビピリジルを様々な濃度で加えたところ、1 μ M のビピリジル添加に対しても、有意な蛍光シグナルの減弱が確認できた(図 b)。従って、RhoNox-4 は、細胞内鉄(II)イオン濃度の増加と減少を共に検出可能なプローブであることが示された。



(a) 2 μ M probe + 20 μ M FeSO₄ in 50 mM HEPES (pH 7.4), λ_{ex} = 540 nm.
(b) HepG2 cells were incubated with Fe(II) or Bpy, then 1 μ M RhoNox-4. **p < 0.01 (n=3)