

27P-am03S

細胞内グルタチオンの求核付加・解離平衡に基づく超解像蛍光イメージングプローブの開発

○両角 明彦^{1,4}, 神谷 真子^{2,5}, 宇野 真之介¹, 梅澤 啓太郎¹, 吉原 利忠³, 飛田 成史³, 浦野 泰照^{1,2,4} (¹東大院薬, ²東大院医, ³群馬大理工, ⁴AMED CREST, ⁵JST さきがけ)

【背景・目的】 超解像蛍光イメージング法の 1 つに、蛍光色素を確率的に明滅させて 1 分子ずつ高精度に位置決定することで超解像画像を構築する single-molecule localization microscopy (SMLM) という手法がある。しかしながら、市販の一般的な色素を明滅させるには添加物や強いレーザー光照射が必要であり、生理的条件下での生細胞観察は難しい。そこで当研究室では、分子内スピロ環化平衡を原理として、添加物や高強度レーザーによらず自発的に明滅するローダミン色素を開発した (Nature Chem. 6, 681-689 (2014))。しかしながら、分子内スピロ環化平衡に基づく分子設計法のみでは実現しうる光特性に限界があり、多様な波長や明滅特性への要請に対応することが難しい。そこで本研究では、望みの光特性を示す SMLM 用蛍光プローブを柔軟かつ効率的に開発するため、上記分子設計法を拡張した新たな設計法の確立を試みた。

【方法・結果】 生理的条件下で機能する新たな蛍光明滅原理として、細胞内求核種であるグルタチオン (GSH) がキサンテン系色素に対して可逆的な求核付加・解離平衡を示し、それに伴い可視域の吸収および蛍光の強度が劇的に変化する現象に着目した。そこでまず、種々のキサンテン系色素を合成し、平衡時における蛍光性/無蛍光性状態分子の存在比率および蛍光性状態の持続時間といった明滅特性を評価した結果、生細胞内環境下での SMLM に最適な特性を示す 2 色のピロニン誘導体 SiP650 および CP550 を見出した。これらの色素を蛍光顕微鏡下で評価した結果、生理的濃度の GSH 存在下で自発的な蛍光明滅を示し、強いレーザー光照射なしに、固定細胞における超解像画像の取得が可能であることを示した。さらに、CP550 誘導体を用いることで、添加物を用いない生理的条件下での生細胞 SMLM にも成功しており、現在はこれらの色素を用いた生細胞 2 色 SMLM 等の様々な観察実験系への応用を検討している。