

27P-am04S

ローダミン色素を母核とした細胞質滞留性近赤外蛍光 Ca^{2+} プロープの開発
○沼澤 宏治^{1,3}, 花岡 健二郎¹, 石川 智愛¹, 池谷 裕二¹, 浦野 泰照^{1,2,3} (¹東大院薬, ²東大院医, ³AMED CREST)

【背景・目的】カルシウムイオン(Ca^{2+})は神経伝達や筋収縮など様々な生命現象におけるセカンドメッセンジャーとして重要な役割を担っており、特に細胞質においては、チャンネルを介した細胞外からの Ca^{2+} 流入や小胞体などの Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 流入によって細胞機能が制御されている。そのため、細胞質における Ca^{2+} 濃度の変動を観察することは生命現象を理解する上で極めて重要である。一方、近年我々が開発した近赤外蛍光 Ca^{2+} プロープ「CaSiR-1 AM」(*J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 14157) は培養細胞へと応用した際、数 100 μM の高濃度の Ca^{2+} が存在するリソソームへと集積するため、強い蛍光シグナルがノイズシグナルとして観察される。そこで本研究において、細胞質に滞留し近赤外光領域に蛍光波長を有する新たな Ca^{2+} プロープの開発を行った。

【方法・結果】初めに、一般にミトコンドリアやリソソームへの集積性を示すローダミン色素の分子構造を修飾することで、細胞質へと滞留させることを試みた。その結果、ローダミン色素構造の適切な部位にカルボキシ基を導入し、さらにアセトキシメチル (AM) 基で保護したイミノ二酢酸構造を導入することで、ローダミン色素を細胞質へと滞留させることに成功した。さらにこの知見を基に、色素構造へカルボキシ基と、 Ca^{2+} キレーターである BAPTA 構造の AM 保護体を導入することで、リソソームへは局在せず、細胞質に滞留する近赤外蛍光 Ca^{2+} プロープ「CaSiR-2 AM」の開発に成功した。本プロープは Ca^{2+} 存在下において 26 倍の蛍光上昇を示し、さらに HeLa 細胞におけるヒスタミン刺激によるカルシウムオシレーションや、ラット脳スライスにおける神経活動に伴う神経細胞内の Ca^{2+} 濃度変動を捉えることに成功した。