

26V-pm01

Hydroxymethyl Rhodamine 類の光特性を利用した細胞内 pH 測定法の開発

○有馬 陵汰¹, 神谷 真子^{2,3}, 両角 明彦¹, 浦野 泰照^{1,2,4} (¹東大院薬, ²東大院医, ³JST さき
がけ, ⁴AMED CREST)

【目的】細胞内 pH は酵素活性や蛋白質機能変化を制御することが知られており、そのため細胞内の pH を測定することは病因究明・創薬に重要である。しかし、これまでの pH 測定に汎用されてきたレシオ型蛍光プローブは複数波長での励起・蛍光観測が必要であり、観測波長域を占有する点が、蛍光寿命イメージング技法では画像取得に長時間を要する点がそれぞれ課題として残されている。そこで本研究では、HMR(Hydroxymethyl Rhodamine)類の光特性を利用することで、一波長励起一波長蛍光型かつ短時間で pH の測定が可能な新規 pH プローブ・技法の開発を目指した。

【方法・結果】近年の我々の検討から、HMR は蛍光性の開環体と無蛍光性の閉環体との平衡状態で存在し、さらに、308 nm 光照射により一過的に産生した開環体が閉環体に戻る速度(開環体の寿命)が pH 依存的であることが明らかとなった(図)。本研究ではこの知見を基に開環体の寿命を指標とした細胞内 pH 計測プローブの開発を目指した。具体的には、

開環を誘起する光の波長が 355nm 以上になるよう、キサンテン環を環拡大した誘導体を設計・開発した。その結果、部分骨格としてナフトールを持つ誘導体が 355nm 光照射により開環すること、さらに、開環体と閉環体の存在比率 (pK_{cycl}) や溶解性の観点から、HMDiEt-NaphtR を候補化合物として選定した。年会では、精製タグ蛋白へのラベル化および細胞内での挙動もあわせて発表予定である。

