

26V-pm02S

後期エンドソーム pH を定量可能なレシオ型蛍光プローブの開発

○溝口 舞¹, 花岡 健二郎¹, 鏡味 優¹, 北沢 裕¹, 内山 真伸¹, 浦野 泰照^{1,2,3} (¹東大院薬, ²東大院医, ³AMED CREST)

【目的】これまでリソソームの pH のレシオイメージングは、pH 変化によって吸収波長の変化を示す緑色蛍光色素フルオレセインをデキストランに標識したプローブ (*Proc Natl Acad Sci USA* 1978, 75, 3327) が用いられてきたが、フルオレセインは酸性条件下で蛍光が減少することや光褪色に弱いという問題点があった。近年、当研究室で開発したレシオ型 pH プローブである SiRpH5 は光褪色に強く長時間のレシオイメージングが可能であると共に、励起・蛍光波長が長いことから、GFP などの緑色蛍光タンパク質との共染色が可能であった。一方、レシオ値変化が $pK_a = 6.1$ であり、初期エンドソーム ($pH \sim 6.3$) やリサイクルエンドソーム ($pH \sim 6.5$) の pH 測定に適しているが、後期エンドソーム ($pH \sim 5.5$) やリソソーム ($pH \sim 5.0$) の測定には適した pK_a ではなかった。そこで今回、更に低い pK_a を有した蛍光プローブの開発を行った。

【方法・結果】SiRpH5 の分子構造上にあるベンジル部位の 2 位、3 位、4 位にスルホ基を導入した化合物をそれぞれ合成、光学特性を精査することで、スルホ基の pK_a に対する効果を調べた。また、計算化学により精査することで、2 位スルホ基がプロトン化したアミノ基と静電的に相互作用することで、 pK_a の低下への影響が小さくなっていることが分かった。そこで 3 位及び 5 位にスルホ基を導入することで、 $pK_a = 5.5$ となる新たな蛍光プローブ SiRpH6 の開発に成功した。更に本プローブを用いて生細胞イメージングを行った結果、SiRpH5 と比較して、より酸性領域の pH を示すエンドソーム分布を観察することに成功した。

