

23N-am02S

シアリダーゼを可視化する新規蛍光イメージング剤の開発

○田邊 桃子¹, 紅林 佑希¹, 高橋 忠伸¹, 大坪 志宗², 三浦 知美¹, 藤田 優香¹, 南 彰¹, 池田 潔², 鈴木 隆¹ (静岡県大薬,²広島国際大薬)

【目的】当研究室では、シアリダーゼ活性の蛍光イメージング剤「BTP3-Neu5Ac」を開発し、インフルエンザウイルスのシアリダーゼ活性を可視化することで、インフルエンザウイルス感染細胞をライブ蛍光イメージングする新手法を開発してきた。本研究では、BTP3-Neu5Ac を基本構造として、炭化水素鎖の導入により、インフルエンザウイルス感染細胞や細胞および組織中のシアリダーゼを高精度にイメージング可能な新規蛍光イメージング剤の開発を試みた。

【方法】BTP3-Neu5Ac は蛍光体である BTP3 とシアリダーゼの基質となる Neu5Ac を結合させた化合物である。そこで蛍光の本体である BTP3 構造に炭化水素鎖を導入して、疎水性の向上、膜透過性の向上を図った。炭化水素鎖の導入位置、不飽和度、鎖長を変えた様々なパターンの誘導体を合成することで、高精度な蛍光イメージングに最適な誘導体構造の探索を行った。開発した新規イメージング剤によるウイルス感染細胞等の蛍光イメージングを行い、BTP3-Neu5Ac との比較や、細胞内シアリダーゼの染色、免疫染色法による染色像との比較をおこなった。

【結果・考察】蛍光イメージング剤の BTP3 構造に炭化水素鎖を導入することで、シアリダーゼとの反応性を維持したまま、蛍光体の疎水性を高めることに成功した。導入鎖の BTP3 への結合位置、不飽和度、鎖長を検討した結果、蛍光イメージングの輝度や局所染色性の観点から最適な導入炭化水素鎖構造を決定した。開発した新規蛍光イメージング剤により、蛍光体の拡散の起こらない高精度な感染細胞の蛍光イメージングや、免疫染色法と一致するシアリダーゼの細胞内局在のイメージングができた。今後、更なる高感度化、高精度化を目指し改良を行っていくとともに、シアリダーゼの可視化技術を利用した機能解析を行っていきたい。