

一酸化窒素蛍光プローブの開発と応用

Development and Application of Fluorescent Probes for Nitric Oxide

小島宏建^{1,4)}、大崎 隆¹⁾、佐々木栄太¹⁾、西松寛明^{2,4)}、平田恭信^{3,4)}、長野哲雄^{1,4)}
Hirotsu Kojima,^{1,4)} Takashi Osaki,¹⁾ Eita Sasaki,¹⁾ Hiroaki Nishimatsu,^{2,4)} Yasunobu Hirata,^{3,4)}
Tetsuo Nagano,^{1,4)}

¹⁾ 東京大学・大学院薬学系研究科薬品代謝化学教室、²⁾ 東京大学・医学部泌尿器科、
³⁾ 東京大学・医学部循環器内科、⁴⁾ 科学技術振興機構、CREST

¹⁾ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, ²⁾ Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, ³⁾ Department of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, ⁴⁾ CREST, JST

我々は一酸化窒素 (NO) を捉えて蛍光を発する機能性色素 (NO 蛍光プローブ) を開発し、生細胞や組織切片から刻々と生成する NO のイメージングを可能にしてきた。さらに我々は *in vivo* NO イメージングを可能にするプローブ開発にも取り組んでいる。

Fluorescein や Rhodamine ベースのプローブに用いる 500 nm 前後の可視光はヘム等の生体成分による吸収が大きく、*in vivo* イメージングに適用した場合、表皮付近の観察に限られる。そこで生体組織の透過性が良いとされる 650-900 nm の近赤外領域の光を用いる NO 蛍光プローブを分子設計した。近赤外蛍光団として知られているトリカルボシアニンの蛍光を芳香族ジアミンからの光誘起電子移動により消光させておき、NO との反応でトリアゾール体に変化させ、電子移動を解除し、近赤外蛍光を回復させる仕組みに基づいた。実際に合成し、NO と反応させて測定したところ、設計通りに 790 nm における蛍光強度が増大した。本プローブ DAC を用い、ラット腎臓内部で生成する NO のイメージングを行った。

さらに、我々はこれまでに開発してきたプローブが細胞内 NO を捉えるものであるため、細胞内で生成し、膜を透過して細胞間で機能する分子を可視化することも目指した。

NO 蛍光プローブ DAF-2 を細胞膜に保持させるため、リン脂質 (DPPE) を結合させて膜へ anchoring させる方法を試みた。まず、DAF-2 の母核蛍光色素である Fluorescein をリン脂質と結合させた FL-PIP-DPPE を合成し、HeLa 細胞に適用して共焦点顕微鏡で検証した。その結果、リング状の蛍光画像が得られ、色素が細胞膜上に局在化することが確認できた。同様に DAF-2 と繋いだ DAF-PIP-DPPE を合成し、培養細胞において NO を膜上で捉える様子の観察に成功した。