

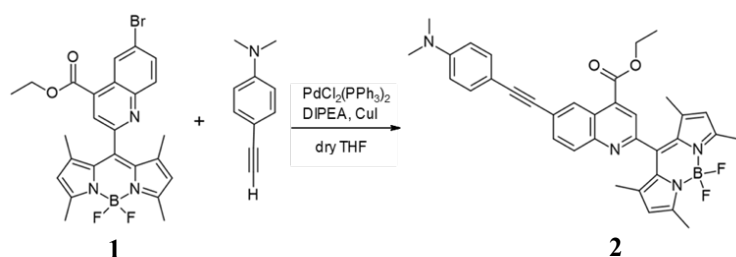
新規プローブによる分子膜の電氣的環境の計測

河原田 悠・○大庭 亨 (宇都宮大工)

Measurements of electric potentials of micelles and liposomes by newly developed voltage-sensitive fluorescent probes (Faculty of Engineering, Utsunomiya University) KAWARADA, Haruka; OBA, Toru

ニューロンの軸索やミトコンドリア内膜に生じる膜電位が、神経伝達や呼吸といった重要な細胞機能に関連していることはよく知られている。膜表面の電解質や脂質の極性基が作る電位勾配も含めた生体膜の電氣的環境は、膜の動態観察や、細胞への刺激入出力のための窓口となり得る。我々は生体膜に形成される様々な電位環境を、低分子プローブによって計測あるいは制御することを目指している。本発表では、最近開発した電位感受性蛍光プローブ分子について報告する。

5-ブロモイサチンを出発原料として5段階で Bodipy 誘導体 **1** を合成した (Scheme 1)。 **1** とフェニルアセチレン誘導体との菌頭カップリングにより目的物 **2** を得た。化合物 **2** のメタノール中での極大吸収波長は約 505.5 nm、極大蛍光波長は 526.5 nm、1-デカノール中では極大吸収波長は約 509.5 nm、極大蛍光波長は 527.0 nm で、溶媒の極性が低くなるにつれてやや長波長側にシフトした。一方、1-デカノール中での蛍光強度はメタノール中の 34 倍であり、溶媒の極性が低いほど蛍光は強くなった。

Scheme 1. 化合物 **2** の合成

2 を内包させた SDS ミセル分散液に NaCl 水溶液を滴下し、**2** の蛍光変化を検討した。その結果、NaCl 濃度 0 mM から 200 mM への変化にしたがって、**2** の蛍光強度は 1.3 倍ほど増大した (Figure 2)。これは SDS の親水基周辺に形成される電位に **2** が応答したものと考えられる。

リポソームを用いて、膜電位に対する **2** の応答性を評価した。K⁺ 選択的イオノフォアであるバリノマイシンを用いてリポソーム内に蓄積した K⁺ をバルクに輸送し、膜電位を変化させた (約 150 mV)。di-4-ANEPPS を内標準物質として測定したところ、バリノマイシン添加前後で **2** の蛍光強度が変化することを確認した (Figure 3, 緑線)。

- 1). P. Sarkar, A. Chattopadhyay, *J. Phys. Chem. B*, **126**, 4415-4430 (2022)
- 2). T. Oba, et al., *J. Photochem. Photobiol. A*, **382**, 111900 (2019)

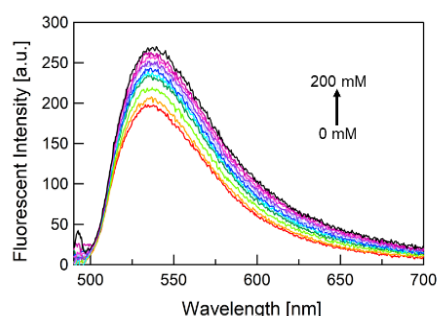


Figure 2. NaCl aq. (3.4 wt%) 添加に伴う化合物 **2** の蛍光発光スペクトルの変化 (λ_{ex} 480 nm, 室温).

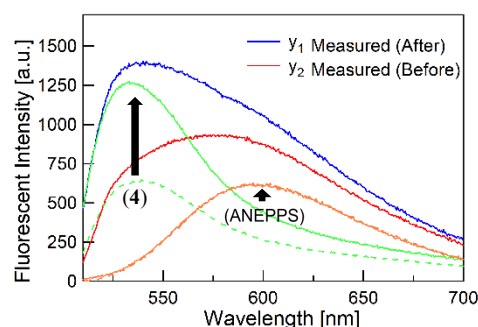


Figure 3. 膜電位の変化に伴う **2** および di-4-ANEPPS の蛍光スペクトル変化と、各成分のスペクトル (λ_{ex} 500 nm, 室温).