

グルタチオンとの反応を利用した蛍光レシオ粘度プローブの合成

○下田大夢・DEY Nilanjan・安藤北斗・木村 僚・齊藤尚平（京大院理）

Synthesis of a ratiometric viscosity probe through the reaction with glutathione.

(Kyoto University) Hiromu SHIMODA, DEY Nilanjan, Hokuto ANDO, Ryo KIMURA, Shohei SAITO

蛍光レシオメトリック粘度プローブは、粘度応答性の二重蛍光を示すことから、不均一媒体においても局所濃度変化に依存せず粘度を定量できる。当研究室では、2つの剛直な発光性ユニットを柔軟な8員環に縮環させた蛍光レシオ粘度プローブ(FLAP)を合成し、従来の蛍光粘度プローブ(BODIPY-C₁₂)よりも応答感度が高いことを報告している¹。

本研究では、還元型グルタチオン(GSH)と反応して蛍光を発するようになるフタルアルデヒド²に着目し、FLAPの両翼にベンゾフタルアルデヒド構造を組み込んだ前駆体を合成した。この前駆体を細胞に導入することで、内在性GSHとの反応による蛍光レシオ粘度プローブの細胞内合成に挑戦する。

GSHは、細胞中の酸化ストレスに応じて酸化型との存在比率を変える重要な生体分子であり、その定量イメージングは興味深い研究対象となっている^{3,4}。

本計画では、FLAPのπ共役骨格が疎水的であるため、親水性の足掛かりとなる置換基(図中のOR基)を導入した新規なGSH-FLAPを設計した(Figure 1)。当初合成したGSH-FLAP前駆体はOR部位にアルコキシ基をもち、細胞実験に用いるには水溶性が充分ではないものの、室温の有機溶媒中においてGSHと反応して粘度応答性の蛍光を発することがわかった。

系中での生成が予想されるGSH-FLAPは、DMSO中では二重蛍光性を示し、V字構造に由来する485 nmの蛍光帯と平面構造に由来する568 nmの蛍光帯が観測された。一方、グリセロールを加えた高粘度環境では励起状態における平面化の抑制に伴って485 nmの蛍光帯のみが観測され、粘度に依存した蛍光レシオ変化を確認した。DMSO中での蛍光量子収率は14%であり、当研究室の先行研究と比較して、格段に蛍光量子収率が向上した。今後は、親水性置換基を導入することで水溶性を付与し、細胞中での蛍光レシオ粘度プローブ合成を目指す。

1) R. Kotani, H. Sotome, H. Okajima, A. Sakamoto, H. Miyasaka, S. Saito *et al.*, *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5*, 5248.

2) A.P. Senft, H.G. Shertzer *et al.*, *Analytical Biochemistry* **2000**, *280*, 80.

3) K. Umezawa, M. Yoshida, M. Kamiya, T. Yamasoba, Y. Urano. *Nature Chemistry* **2017**, *9*, 279

4) H. Liu, Z. Shen *et al.*, *Chemical Science* **2020**, *11*, 8495

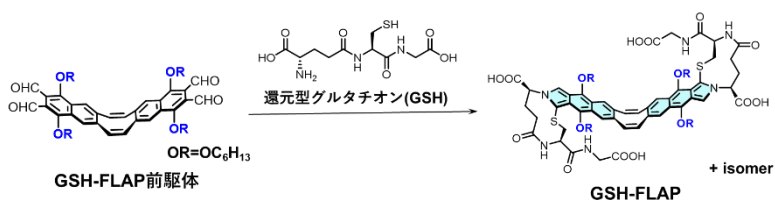


Figure 1. 前駆体とGSHの反応による蛍光粘度プローブの生成

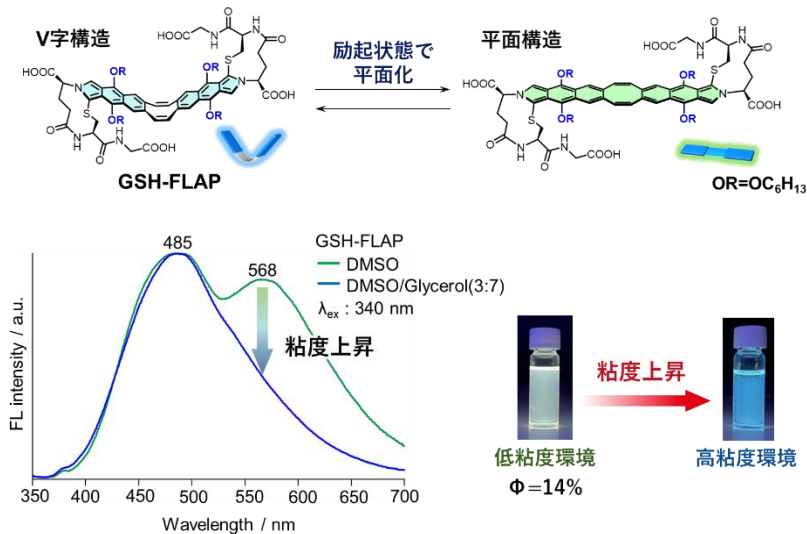


Figure 2. GSH-FLAPのコンフォメーション変化と粘度応答性