

ジアリールホスホニウム架橋型ミトコンドリア蛍光プローブの開発

○袴田 彩仁¹、多喜 正泰²、村井 征史¹、川口 祥正³、二木 史朗³、山口 茂弘^{1,4,5}
 Diarylphosphonium-Bridged Fluorescent Dyes for Mitochondrial Imaging (¹*Graduate School of Science, Nagoya University*, ²*Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Gifu University*, ³*Institute for Chemical Research (ICR), Kyoto University*, ⁴*Institute of Transformative Bio-Molecules (WPI-ITbM), Nagoya University*, ⁵*Integrated Research Consortium on Chemical Sciences (IRCCS), Nagoya University*) ○ Ayato Hakamada¹, Masayasu Taki², Masahito Murai¹, Yoshimasa Kawaguchi³, Shiroh Futaki³, Shigehiro Yamaguchi^{1,4,5}

We have developed a diphenylphosphonium-bridged fluorophore, PLaS, which exhibits remarkable photophysical properties. In an aqueous solution containing 10% DMSO, PLaS showed a large Stokes shift, with absorption and emission maxima at 460 nm and 575 nm, respectively, and a high fluorescence quantum yield of 0.60. The cationic nature of the PLaS fluorophore facilitated its selective localization to mitochondrial inner membranes, as confirmed by STED imaging. Furthermore, we functionalized PLaS with a propyl sulfonate group, yielding PLaS-C₃SO₃. While PLaS-C₃SO₃ is intrinsically membrane-impermeable, co-incubation with a cell-penetrating peptide enabled selective staining of the mitochondrial outer membrane in living cells.

Keywords : Fluorescence probe, phosphonium, mitochondrial inner membrane, mitochondrial outer membrane, super-resolution imaging

ミトコンドリアは ATP 合成やアポトーシスをはじめとする細胞活動を担い、その機能不全は多くの疾患の原因となる。本研究では、ミトコンドリア動態を可視化する新たな蛍光プローブとして、ジフェニルホスホニウムで架橋したラダー型蛍光色素 PLaS を開発し、蛍光プローブの小型化および多機能化を実現した (Figure 1a)。メトキシ基を有する PLaS-C₁ は、10% DMSO を含む水溶液中で 465 nm および 575 nm に吸収および発光極大を示した。興味深いことに、本色素は 4135 cm⁻¹ という大きなストークスシフトを有しながら、0.60 という高い蛍光量子収率を示した。HeLa 細胞を染色したところ、ミトコンドリアへの特異的な集積が認められ、STED 顕微鏡により明瞭なクリステ構造が観察されたことから、ミトコンドリア内膜プローブとして機能することがわかった (Figure 1b)。

さらに、プロピルスルホン酸基を導入した細胞膜非透過性の PLaS-C₃SO₃ を合成した。これを細胞膜透過性ペプチドと共培養したところ、ミトコンドリア外膜が染色される様子が確認された (Figure 1c)。

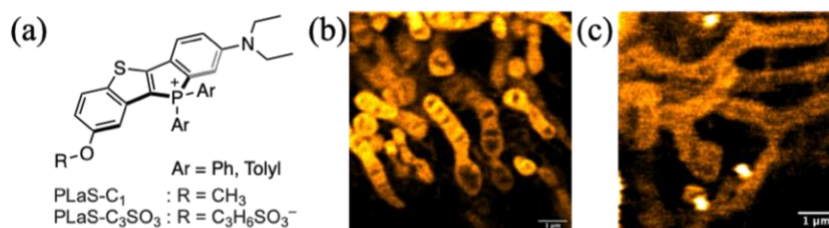


Figure 1. (a) Structures of PLaSs. (b) STED image of mitochondrial inner membrane with PLaS-C₁. (c) STED image of mitochondrial outer membrane with PLaS-C₃SO₃.