

【目的】NO、CO に続き H_2S が第三のガス状生理活性物質として近年注目を集めている。 H_2S による様々な生理機能がこれまでに明らかになってきたが、その働きに関して未解明な点が多い。このような状況のもと、生体内での H_2S の働きを解明するべく生細胞内の H_2S を可視化する蛍光プローブが開発されて、本分野の研究は大きく進展してきた。

しかしながら、現在開発されているプローブでは生理的条件下での微量の H_2S を精度よく検出するには感度が不足している。さらに、酸化ストレス応答等においてNO、CO、 H_2S それぞれ単独の働きのみならず、これら分子のクロストークによる様々な生体制御が近年明らかになってきたが、細胞内でのこれら活性種の時空間的な制御に関しては明らかになっていない。とりわけ、 H_2S とCOは互いにその産生酵素を通してfeedbackしあう関係にあることが明らかになってきており、これらのクロストークに興味を持たれる。

そこで、このようなクロストークの機構と生理的意義を明らかにするべく、これら活性種のそれぞれに対応する複数の蛍光プローブを用いて蛍光顕微鏡によって観察するマルチカラーイメージングの基盤を確立することを目指し、本研究ではこれらガス状シグナル分子のライブセル マルチカラーイメージングによる時空間的解析の研究基盤となる H_2S 蛍光プローブを開発することを目的とした。本研究によって H_2S が関わるクロストークを明らかにできれば、ガス状シグナル分子を基軸とする生命システムの制御機構解明研究に大きく貢献し、発がんや老化、生活習慣病など様々な疾病治療に波及効果をもたらすことが期待される。

【方法】本研究ではxanthene系の蛍光色素を活用し、高感度化を指向したturn on型の H_2S プローブの設計を行った。本化合物は H_2S 選択的に脱保護反応が進行することにより連鎖的に H_2S と蛍光を増幅して H_2S を高感度に検出できることが期待される。すなわち、 H_2S をトリガーとして1,4-脱離反応が進行し、等量以上の H_2S 等価体が放出されると同時に消光されていたプローブ分子が蛍光性の化合物へと変換され、放出された H_2S はさらに未反応のプローブ分子と反応し、連鎖的に H_2S と蛍光を増幅して高感度に検出できる H_2S 増幅型センサー分子である。

【結果】まず、fluoresceinをDuff反応に付してホルミル化を試みたところ、得られた生成物は溶解性などの物性に乏しく、目的とするテトラホルミル体を得ることができなかった。そこで、2',7'-dichlorofluoresceinを用いて反応を行ったところ目的化合物が収率良く得られ、ついで NaBH_4 還元を行ってヒドロキシメチル体へと導いた。また、生体イメージングに有利な近赤外蛍光を活用するべく、10位Oを置換したxanthene系色素の合成にも取り掛かり、中間体へと導いた。今後、各工程の収率の向上を図るべく合成ルートの見直しを行うと同時に、さらなる変換を行って標的プローブの合成を達成し、続いて H_2S との反応性の評価を行って、シグナル増幅能を持たない既存の H_2S 蛍光プローブと比較し評価する。さらに、*in vitro* 培養細胞系での H_2S 検出実験に適用し、プローブの妥当性を検討していく。

H_2S 増幅型蛍光プローブ

