

生命と化学

2021 年度採択研究代表者

2022 年度

年次報告書

仁子 陽輔

高知大学 教育研究部

助教

生体内エクソソーム動態を可視化する革新的蛍光プローブの創成

研究成果の概要

本研究では、超高輝度なエクソソーム染色用蛍光プローブを創成することにより、モデルマウスの血中を流れるエクソソームとその動態を観察する革新的な二光子励起蛍光イメージング(2PM)を実現することを目的としている。2021年度には、強力な赤色発光性色素であるスクアライン(SQ)をモデルに、ピレンを基盤とした新規近赤外発光性色素 PYSQ-N1 を開発し、両色素を用いることで生体深部の高速かつマルチカラー2PM が実現できることを示してきた。

2022年度には、上記の SQ および PYSQ-N1 を基にした新規エクソソーム染色用蛍光プローブの開発に取り組んだ。SQ や PYSQ-N1 に対し、①双性イオン置換基、もしくは②アニオン性置換基からなるアンカー分子を導入した。これらアンカー分子は、蛍光色素をエクソソーム外殻にある「脂質二重膜」を効率的かつ選択的に染色できるよう設計されている。①および②を導入した SQ、PYSQ-N1 誘導体蛍光プローブを合成し、それぞれ SQ-1 と PYSQ-1(①)、SQ-2 および PYSQ-2(②)と命名した。

次に、上記の四つの新規蛍光プローブの脂質二重膜染色性を調査した。エクソソームのモデルとして、ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC、非秩序相)およびスフィンゴミエリン・コレステロール(SM/Chol、秩序相)からなるリポソームを作製し、それらの存在下における蛍光プローブの吸収・蛍光スペクトルを測定した。これらの実験により、SQ-2 はいずれのリポソームも容易に染色することができ、さらに同じ赤色発光性の市販色素よりも効率的に脂質二重層を染色できることが判明している。また、PYSQ 誘導体に関しても、PYSQ-2 の方がリポソーム染色性に優れることが明らかになっており、アンカー分子②の汎用性が伺える結果となった。今後はいよいよ、SQ-2 や PYSQ-2 を用いたエクソソームの外在的染色を実施し、さらにそれらの生体内挙動を 2PM にて捉えることができるか、検討していく予定である。