

各報道機関 御中

## シグナル増強システムを用いた亜鉛の高感度検出プローブの創製

### ～細胞内に微量に存在する亜鉛を蛍光イメージングで捉える～

神戸薬科大学 薬化学研究室の奥田健介教授、高木晃助教、高嶋一平特任助教らは、生体内に存在する微量の亜鉛を高感度に検出する新たな機能性分子を開発しました（図1）。生体内で亜鉛は酵素などの補因子としてタンパク質の合成やDNA修復に関わるだけでなく、細胞内外での多様な動態が細胞に対する多様な刺激のシグナル伝達因子<sup>\*1</sup>としても機能します。そこで、このような亜鉛の挙動を解析することにより、神経変異性疾患や糖尿病など亜鉛の恒常性破綻と関連することが知られている疾患のメカニズムを解明することがはじめて可能となります。特に蛍光イメージング<sup>\*2</sup>は細胞レベルで亜鉛の挙動を視覚的に解析できる優れた手法であり、亜鉛を検出可能な蛍光性のセンサー分子（蛍光プローブ<sup>\*3</sup>）は数多く開発されてきました。しかし、従来の蛍光プローブは亜鉛と1：1で反応してはじめて強く光るようになる分子設計を用いているため、細胞内の複雑環境によって著しく感度が低下し、低濃度の亜鉛を検出することは困難です。そこで本研究では、1つの亜鉛が触媒回転しながら多数のプローブ分子と反応して蛍光シグナルを増強できる新規の蛍光プローブを開発しました。さらに本分子を用いることによって、従来のプローブ分子では検出が困難であった低濃度域でも細胞内の亜鉛を蛍光イメージングすることに成功しました（図2）。本技術により、低濃度亜鉛が関与する未知の細胞内シグナル伝達を解明する研究の加速化が期待されます。

この研究成果は、2020年10月6日に、英国王立化学会の化学全般誌 Chemical Communications への掲載に先立ちWEB上で掲載されました。

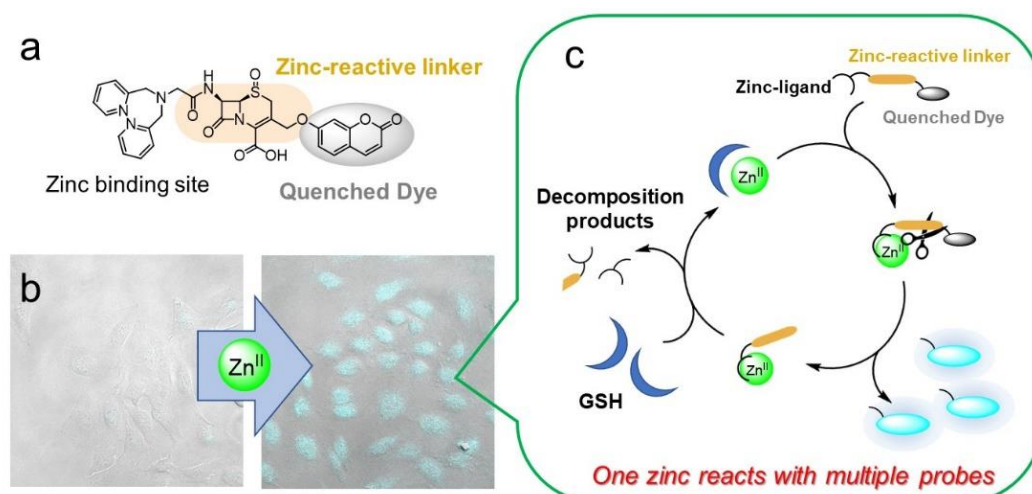


図1 a) 開発した蛍光プローブの構造、b) 本システムでの細胞内亜鉛の蛍光イメージング画像、c) 本研究における亜鉛検出機構の概略図

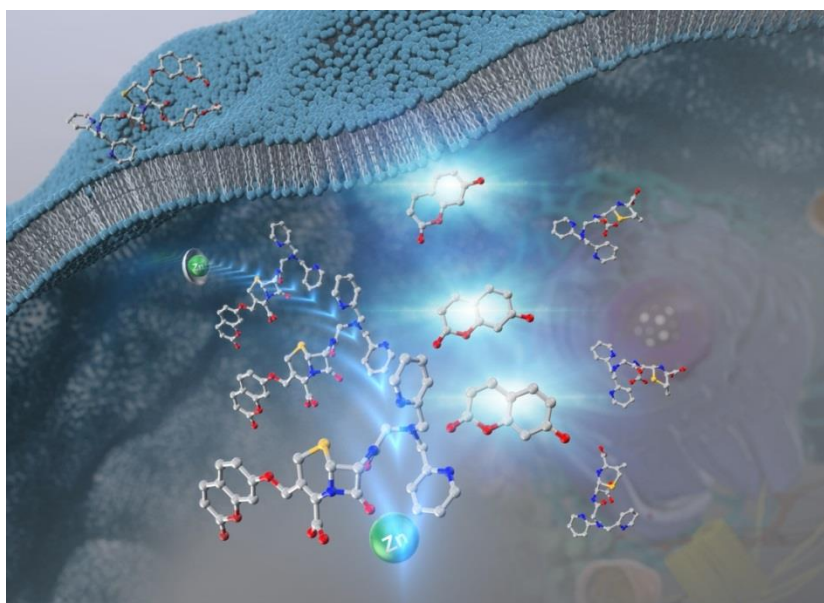


図 2 細胞内夾雑系で主としてグルタチオンに捕捉されている亜鉛が、触媒回転を行いながらプローブと次々に反応して蛍光シグナルを増強していく。

さらに、本研究のイメージ図（図 2）が研究成果を発表する論文の掲載号での outside back cover（裏表紙）の表紙画に選ばれました。

### [研究の背景]

生体内では多くの金属種が存在して生体内機能を維持しています。その中でも亜鉛は酵素やジンクフィンガータンパク質の補因子としてタンパク質合成や品質管理、DNA 修復に関わる重要な元素として着目されてきました。また近年では亜鉛イオンの細胞内外での動態がシグナル伝達因子としてはたらき、多くの生体内機能に関わることが解明されてきています。以上のように、これまでの研究から亜鉛イオンの生細胞内外の挙動を理解することが、亜鉛が関与する多様な生体内機能のメカニズムを解明するうえで重要であることが明らかとなっており、それをうけて生体内の亜鉛を簡便かつ高感度に検出する方法が種々開発されてきました。その中でも特に、蛍光イメージングは視覚的に亜鉛の存在を解析できる強力な分析法ですが、単純な緩衝液中で評価した際の蛍光プローブの性能と比較して細胞内夾雑系での亜鉛の検出感度が著しく低下する問題を抱えていました。

### [研究成果の概要]

本研究では、一つの亜鉛イオンに一つのプローブ分子が反応する従来の分子設計と異なり、一つの亜鉛イオンが触媒回転しながら多数のプローブ分子と反応して蛍光シグナルを増強していく新たな分子設計を開発しました。従来の蛍光プローブではグルタチオンなど亜鉛を捕捉する分子が高濃度に存在する細胞内で検出感が大きく低下し、数  $\mu\text{M}$  の亜鉛濃度では蛍光法による検出を行うことは困難です。しかし、本システムを用いた蛍光プローブでは  $1\mu\text{M}$  から有意に細胞内亜鉛を蛍光検出することが可能であることを示しました。

## [研究成果の意義]

生細胞内での亜鉛の蛍光法による検出は、高濃度の亜鉛を有する顆粒組織などに限られていました。今回の研究成果は蛍光プローブによる生細胞内での亜鉛の検出濃度域を拡張し、明らかとなっていない低濃度域での亜鉛の生理機能解明に貢献します。さらには、神経変異性疾患や糖尿病など亜鉛の恒常性破綻と関連することが知られている疾患のメカニズムを解明するツールとして使用すれば、これら疾患に対する新規な作用機序に基づく治療薬を開発することも可能となります。また本研究で示した「シグナル増強」という蛍光プローブの新たな分子設計がケミカル・バイオロジー<sup>\*4</sup> 研究分野に波及されることにより、他の細胞内シグナル伝達因子として機能する生体内分子や金属イオンにおいても高感度な蛍光プローブの開発につながることを期待されます。

## [用語説明]

<sup>\*1</sup> **シグナル伝達因子**：細胞への刺激に応答して細胞内外に放出される分子やイオンのことであり、他の場所に移動して生体内分子に認識されると、認識した分子は活性化されてさらに他の分子へシグナルを伝達していき、刺激への適応応答が行われる。

<sup>\*2</sup> **蛍光イメージング**：対象とする物質との反応により新たに蛍光を発して光るようになる、あるいは蛍光波長が変化して光の色が変わるようになる化合物をまず細胞などに投与し、蛍光特性が変化した後に励起光で特定の場所に存在する当該分子を発光させることで、対象物質の局在や周囲の環境を間接的に可視化して解析する手法のこと。

<sup>\*3</sup> **プローブ**：生物機能を解析するために有用な低分子有機化合物をさす。

<sup>\*4</sup> **ケミカル・バイオロジー**：20世紀後半以降急激に進化した分子生物学的な手法に加え、有機化学的な手法を駆使して生体内分子の機能や反応を分子レベルで解析する研究分野をさす。21世紀に入って勃興してきた新たな生命科学の中心的学問領域の1つであり、医学生物学における根源的な問題を発掘し、取り組み解決するための強力な研究手法となっている。そのうえ、医薬品のタネとなる生理活性物質が必然的に生み出される研究でもあることから、現代の創薬研究において重要な研究分野でもある。

## [掲載論文]

雑誌名：Chemical Communications (UK, London, ISSN: 1359-7345)

論文名：A fluorogenic probe using a catalytic reaction for the detection of trace intracellular zinc (doi: 10.1039/D0CC05315E)

著者：Ippei Takashima, Yohei Inoue, Nobuyuki Matsumoto, Akira Takagi, and Kensuke Okuda

以上

## お問い合わせ先

神戸薬科大学 企画・広報課（報道関連）  
〒658-8558 神戸市東灘区本山北町4丁目19-1  
TEL: 078-441-7505 FAX: 078-414-8081  
E-mail: kikaku@kobepharma-u.ac.jp  
URL: <https://www.kobepharma-u.ac.jp>

薬化学研究室 奥田健介（研究関連）  
住所は同左  
TEL & FAX: 078-441-7545  
E-mail: okuda@kobepharma-u.ac.jp  
URL: <http://kensukeokuda.wp.xdomain.jp/>