



2024年2月19日

報道関係者各位

慶應義塾大学

蛍光イメージングに汎用されるローダミン蛍光色素の ねじれを利用した新たな蛍光消光機構を発見 —新たな蛍光プローブ開発への展開に期待—

慶應義塾大学薬学部の花岡健二郎教授らの研究グループは、蛍光イメージング（注1）で汎用されるローダミン蛍光色素の新たな蛍光特性を発見しました。

ローダミン蛍光色素は一世紀近く前から知られている蛍光色素で、生きた細胞や動物での蛍光イメージングに使われてきました。蛍光イメージングにおいて、観察したい生体分子を認識して蛍光が off から on へと切り替わる蛍光プローブ（注2）は必要不可欠で、1980年代から蛍光プローブ開発が盛んに行われてきました。ローダミン蛍光色素の蛍光特性は調べ尽くされたと考えられていましたが、本研究グループは、ローダミン蛍光色素において分子内で「ねじれ」を起こすことで蛍光をほぼ完全に消すことに成功し、この現象を立体反発誘導型 TICT（steric repulsion-induced twisted intramolecular charge transfer: sr-TICT）と名付けました。これをもとに、主要な薬物代謝酵素である CYP3A4（注3）活性によって100倍以上の大きな蛍光上昇を示す蛍光プローブの開発に成功しました。さらにこの蛍光プローブを用いて、ヒト iPS 細胞から分化させた成熟肝細胞および腸管上皮細胞の分離・精製に成功しました。

今後、開発した蛍光プローブが創薬や再生医療へと貢献することが期待されます。本研究成果は、2024年2月16日（米国東部時間）に国際学術誌「Science Advances」に掲載されました。

1. 本研究のポイント

- ・ローダミン蛍光色素の分子内の「ねじれ」に着目した新しい蛍光特性を発見した。
- ・従来とは質的に異なる蛍光プローブの開発が可能となった。
- ・主要な薬物代謝酵素である CYP3A4 の活性を検出する蛍光プローブを開発した。

2. 研究背景

生命現象を解明するには、生体内で生体分子や生体環境がどのように変化するか観察することは必要不可欠であり、蛍光イメージングは有用な技術となります。蛍光イメージングには蛍光プローブは必須であり、ローダミン蛍光色素は蛍光プローブの骨格として汎用されてきました。

3. 研究内容・成果

本研究グループが初めて解明した、無蛍光性のローダミン誘導体の消光メカニズム¹にヒントを得て、ローダミン蛍光色素の分子内で「ねじれ」を起こすことで蛍光を消光できることを発見しました（図1）。さらに、この消光構造を利用して薬物代謝酵素であるシトクロム P450 の一つのサブタイプである CYP3A4 の *N*-脱アルキル化を受けることで、酵素活性を検出し蛍光を発する蛍光プローブの開発に成功しました（図2）。CYP3A4 は医薬品の約半数の代謝に関わるため、この蛍光プローブは薬物間相互作用（注4）の検出法として有用になります。また、CYP3A4 が成熟肝細胞および腸管上皮細胞の成熟度を示すマーカーの一つであることを利用し、開発した蛍光プローブを用いてヒト iPS 細胞から分化誘導した上記成熟細胞を分離・精製することに成功しました。

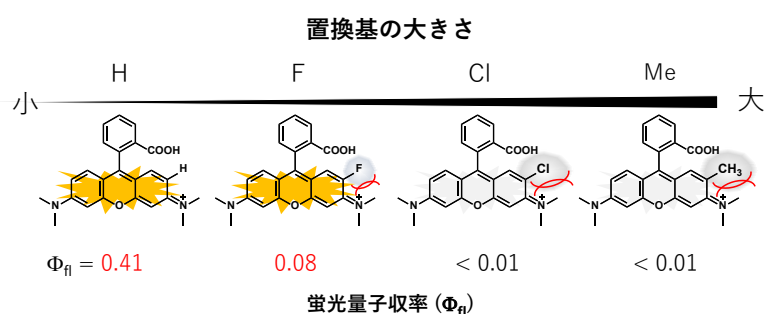


図 1. ローダミン蛍光色素の分子内で構造的な「ねじれ」を起こすことによる蛍光消光
ローダミン蛍光色素の一つであるテトラメチルローダミンのジメチルアミノ基のオルト位に置換基を導入することで分子内でのねじれを生じさせ、蛍光を消光させた。

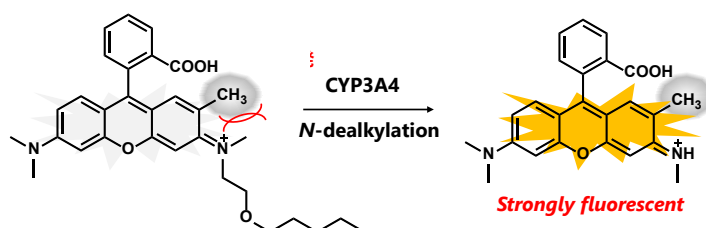


図 2. 立体反発誘導型のねじれ型分子内電荷移動(sr-TICT)による CYP3A4 活性を検出する蛍光プローブ
分子内のねじれを引き起こすことで弱蛍光性としている。薬物代謝酵素である CYP3A4 により N 脱アルキル化を受けることで、分子内での立体反発が解消され、強蛍光性へと変化する。

4. 今後の展開

本研究により、これまでに開発が難しかった生命現象に対しても蛍光プローブの開発が可能となり、本研究分野を大きく発展させることが期待されます。また、CYP3A4 は医薬品全般の主要な代謝酵素であり、その活性を検出する蛍光プローブは、創薬・再生医療分野へと今後さらに貢献していくことが期待されます。

<参考文献>

1. Kenjiro Hanaoka *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 144, 19778-19790 (2022).

<原論文情報>

- ・タイトル A general fluorescence off/on strategy for fluorogenic probes: steric repulsion-induced twisted intramolecular charge transfer (sr-TICT)
- ・著者名 Kenjiro Hanaoka,* Takayuki Ikeno, Shimpei Iwaki, Sayaka Deguchi, Kazuo Takayama, Hiroyuki Mizuguchi, Fumiya Tao, Nobuhiko Kojima, Hisashi Ohno, Eita Sasaki, Toru Komatsu, Tasuku Ueno, Kazuya Maeda, Hiroyuki Kusahara, Yasuteru Urano*
- ・雑誌 Science Advances
- ・DOI 10.1126/sciadv.adi8847

<用語説明>

注 1 蛍光イメージング：生きた細胞内や動物体内での生体分子の挙動をリアルタイムに可視化する測定技術である。

注 2 蛍光プローブ：標的とする生体分子との反応によって蛍光特性が変化する機能性分子であり、これを用いることで、蛍光イメージングができる。

注 3 CYP3A4：シトクロム P450 (CYP) は薬物の代謝に関与する代表的な酵素で、中でもそのサブ

タイプの一つである CYP3A4 は多くの医薬品の代謝に関与する最も重要な代謝酵素である。

注 4 薬物間相互作用：複数の薬の飲み合わせによって効果が増強したり、薬の持つ効果が打ち消されてしまうこと。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

- ・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 薬学部 教授 花岡 健二郎（はなおか けんじろう）

TEL：03-5400-2684 FAX：03-5400-1378 E-mail：khanaoka@keio.jp

- ・本リリースの配信元

慶應義塾広報室（増田）TEL：03-5427-1541 FAX：03-5441-7640

E-mail：m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>