

【目的】 本研究では、我々がこれまでに開発してきた細胞内二価鉄イオン検出蛍光プローブをさらに高感度化し、これまで原子吸光法によって行われてきた細胞内鉄定量法に代わる新たな細胞内鉄濃度評価系、特に生細胞を使った鉄変動ハイスループット解析法を確立することを目的とした。さらに、本解析法を化合物スクリーニングへと応用し、細胞内の鉄動態を制御する新たな生理活性化合物を見出すことを最終的な目的とした。

【方法】 まず、蛍光プローブ分子 RhoNox-1 (*Chem. Sci.* 2013, 4, 1250) をもとに、構造活性相関研究を実施し、ハイスループット解析に耐える高感度な蛍光プローブ分子を創出する。次に、得られたプローブを使い、生細胞内での鉄濃度変動を精度良く解析できる実験条件の最適化を行なった。最後に、本解析法を使い、東京大学創薬機構より供与いただいた化合物ライブラリのスクリーニング実験を行なった。

【結果】 蛍光プローブの構造最適化研究から、RhoNox-1 を超える蛍光応答を示す化合物 RhoNox-4 を見出した。本プローブは二価鉄イオン添加に伴い蛍光強度が 100 倍以上に増大し (RhoNox-1 は約 30 倍)、細胞実験においても極端に良好な応答を示した。RhoNox-4 を使い、細胞の処理条件・撮影条件の最適化により、96well プレートでの再現性の高い測定条件を決定した。この方法を使い、約 3,400 化合物より現在 7 つの鉄制御候補化合物を見出すことに成功した。

従来法 (a) と本研究にて実施する手法 (b) の比較

