慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	細胞内マグネシウムイオンを操作・観察する光学イメージング技術
Sub Title	Optical imaging technology for manipulating and observing intracellular magnesium ions
Author	蛭田, 勇樹(Hiruta, Yūki)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	マグネシウムイオン(以後Mg2+)は細胞内で最も多く存在する2価イオンであり、細胞内で300種類以上の酵素の活性、イオンチャネルに影響を与えるなど重要な役割を担っている。また、近年セカンドメッセンジャーとして機能していると報告され注目を集めている。細胞内Mg2+濃度は、通常0.5-1 mMの間で制御されているが、この恒常性の異常は高血圧、糖尿病、パーキンソン病などの疾患を誘発する。しかし、その詳しいメカニズムは解明されていない。つまり、細胞内Mg2+研究はこれらの疾患のメカニズム解明や新たな生命現象 の発見に貢献できる可能性を持つ。従来のMg2+蛍光プローブは選択性が乏しくカラーバリエーションが少ないといった問題点があった。そこで近赤外領域（650〜900 nm）に極大蛍光を持つ新規マグネシウムイオン蛍光プローブ（KMG-501）を開発した。近赤外蛍光色素としてSi-ローダミン、Mg2+キレート部位にはチャージドベータジケトンリガンドを選択した。この分子は光誘起電子移動（PeT）機構により蛍光のOFF-ONを制御できる。分子設計通り、近赤外領域においてMg2+に対するTurn-ON型のPeT応答を示した。その他のアルカリ、アルカリ土類金属イオンに対しても高い選択性が確認された。そして、KMG-501と可視光域に蛍光を持つミトコンドリアの膜電位、ATP蛍光プローブとのマルチカラー細胞イメージングを達成した。 さらに、細胞小器官選択的なイメージングを目的として、タグタンパク質であるHaloTagに共有結合可能なリガンドを導入したKMG-501Haloの合成を行った。目的化合物の合成は質量分析計により確認できたが、反応で生じる副生成物との分離精製を現在進めている。KMG-501-Haloを開発できれば、ターゲットの細胞小器官の時空間的Mg2+イメージング、蛍光タンパク質とのFRETセンサーとすることで定量的なMg2+イメージングが可能になる。 また、本研究に関連する総説を執筆し、日本化学会のChemistry Letters誌に掲載された。 The magnesium ion (Mg2+) is an essential cation for maintaining proper cellular activities. To visualize the dynamics and functions of Mg2+, there is a great need for the development of Mg2+-selective fuorescent probes. However, conventional Mg2+ fluorescent probes are falling behind in low selectivity and poor fluorescence color variation. In this research, we have developed a Mg2+ probe KMG-501, that has high selectivity for Mg2+ and shows fluorescence in the near-infrared (NIR) region. KMG-501 consists of a charged β-diketone as a selective binding site for Mg2+ and a tetrametyl-substituted Si-rhodamine residue as the NIR fluorophore, which showed OFF-ON response to the concentration of Mg2+. KMG-501 succeeded in imaging intracellular Mg2+ dynamics with NIR fluorescence. Moreover, it allows to simultaneously visualize changes in Mg2+ and ATP concentration and also mitochondrial inner membrane potential and their interactions. Furthermore, for the organelle-selective imaging, we synthesized KMG-501Halo having a covalently binding ligand to HaloTag Protein. Although the synthesis of the target compound was confirmed by mass spectrometry, purification from the by-products generated in the reaction are currently underway. If KMG-501Halo can be developed, it will be possible to perform spatiotemporal imaging of Mg2+ in the target organelle and quantitative Mg2+ imaging by the FRET sensor consisting of the combination of KMG-501Halo and fluoresent protein. In addition, he wrote a review related to this research and published it in Chemistry Letters of the Chemical Society of Japan.
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0041

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2021 年 4 月 15 日

2020 年度　福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	専任講師	補助額	1,500　千円
	氏名	蛭田 勇樹	氏名（英語）	Yuki Hiruta		

研究課題（日本語）

細胞内マグネシウムイオンを操作・観察する光学イメージング技術

研究課題（英訳）

Optical imaging technology for manipulating and observing intracellular magnesium ions

研究組織

氏　名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
蛭田勇樹（Yuki Hiruta）	理工学部・応用化学科・専任講師

１．研究成果実績の概要

マグネシウムイオン(以後 Mg2+)は細胞内で最も多く存在する 2 価イオンであり、細胞内で 300 種類以上の酵素の活性、イオンチャネルに影響を与えるなど重要な役割を担っている。また、近年セカンドメッセンジャーとして機能していると報告され注目を集めている。細胞内 Mg2+濃度は、通常 0.5-1 mM の間で制御されているが、この恒常性の異常は高血圧、糖尿病、パーキンソン病などの疾患を誘発する。しかし、その詳しいメカニズムは解明されていない。つまり、細胞内 Mg2+研究はこれらの疾患のメカニズム解明や新たな生命現象 の発見に貢献できる可能性を持つ。従来の Mg2+蛍光プローブは選択性が乏しくカラーバリエーションが少ないといった問題点があった。そこで近赤外領域（650～900 nm）に極大蛍光を持つ新規マグネシウムイオン蛍光プローブ（KMG-501）を開発した。近赤外蛍光色素として Si-ローダミン、Mg2+キレート部位にはチャージドベータジケトンリガンドを選択した。この分子は光誘起電子移動（PeT）機構により蛍光の OFF-ON を制御できる。分子設計通り、近赤外領域において Mg2+に対する Turn-ON 型の PeT 応答を示した。その他のアルカリ、アルカリ土類金属イオンに対しても高い選択性が確認された。そして、KMG-501 と可視光域に蛍光を持つミトコンドリアの膜電位、ATP 蛍光プローブとのマルチカラー細胞イメージングを達成した。

さらに、細胞小器官選択的なイメージングを目的として、タグタンパク質である HaloTag に共有結合可能なリガンドを導入した KMG-501Halo の合成を行った。目的化合物の合成は質量分析計により確認できたが、反応で生じる副生成物との分離精製を現在進めている。KMG-501-Halo を開発できれば、ターゲットの細胞小器官の時空間的 Mg2+イメージング、蛍光タンパク質との FRET センサーとすることで定量的な Mg2+イメージングが可能になる。

また、本研究に関連する総説を執筆し、日本化学会の Chemistry Letters 誌に掲載された。

２．研究成果実績の概要（英訳）

The magnesium ion (Mg2+) is an essential cation for maintaining proper cellular activities. To visualize the dynamics and functions of Mg2+, there is a great need for the development of Mg2+-selective fuorescent probes. However, conventional Mg2+ fluorescent probes are falling behind in low selectivity and poor fluorescence color variation. In this research, we have developed a Mg2+ probe KMG-501, that has high selectivity for Mg2+ and shows fluorescence in the near-infrared (NIR) region. KMG-501 consists of a charged β-diketone as a selective binding site for Mg2+ and a tetrametyl-substituted Si-rhodamine residue as the NIR fluorophore, which showed OFF-ON response to the concentration of Mg2+. KMG-501 succeeded in imaging intracellular Mg2+ dynamics with NIR fluorescence. Moreover, it allows to simultaneously visualize changes in Mg2+ and ATP concentration and also mitochondrial inner membrane potential and their interactions.

Furthermore, for the organelle-selective imaging, we synthesized KMG-501Halo having a covalently binding ligand to HaloTag Protein. Although the synthesis of the target compound was confirmed by mass spectrometry, purification from the by-products generated in the reaction are currently underway. If KMG-501Halo can be developed, it will be possible to perform spatiotemporal imaging of Mg2+ in the target organelle and quantitative Mg2+ imaging by the FRET sensor consisting of the combination of KMG-501Halo and fluoresent protein.

In addition, he wrote a review related to this research and published it in Chemistry Letters of the Chemical Society of Japan.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）
Yuki Hiruta,* Yutaka Shindo, Kotaro Oka, Daniel Citterio	Small Molecule-Based Alkaline-Earth Metal Ion Fluorescent Probes for Imaging Intracellular and Intercellular Multiple Signals	Chemistry Letters	January 20, 2021