

令和4年7月2日	発表者 保科 智之
<p>【Journal】  <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> <b>2021</b>, <i>60</i>, 16900-16905</p>	
<p>【Title】  Cyanine-Dyad Molecular Probe for the Simultaneous Profiling of the Evolution of Multiple Radical Species During Bacterial Infections</p>	
<p>【Affiliation &amp; Authors】  Division of Chemistry and Biological Chemistry, School of Physical &amp; Mathematical Sciences, Nanyang Technological University, Singapore  Zhimin Wang, Thang Do Cong, Wenbin Zhong, Jun Wei Lau, Germain Kwek, Mary B. Chan-Park, and Bengang Xing</p>	
<p>【Abstract】</p> <p>感染症に関する生理活性因子の中で、食細胞由来のフリーラジカル種である活性酸素種 (ROS) や活性窒素種 (RNS) を含む複数のラジカルメディエーターが感染症の制御に重要な役割を持つことが示されている。しかし、従来の評価方法ではラジカル種と感染症の間の複雑な現象をリアルタイムで観察することは困難であった。そこで本研究では、<i>in vivo</i> と <i>in vitro</i> で ROS と RNS の変動を異なる 2 つの波長で同時に観察できる、シアニンダイアドプローブである HCy5-Cy7 を合成し、その実用性を検討した。</p> <p>まず、様々な緩衝溶液と培地を用いて暗所と光曝露下での HCy5-Cy7 の安定性を調べた結果、HCy5 部分の自己酸化、Cy7 部分の自己分解が起こらないことを確認した。また、HCy5-Cy7 をラジカル処理し、吸光と蛍光スペクトルを測定した結果、HCy5-Cy7 が ROS と RNS に特異的に反応し、2 つの異なるスペクトルが同時に得られた。次に、PMA 処理と LPS/IFN-<math>\gamma</math>/PMA 処理によって化学的に刺激した RAW264.7 細胞に、HCy5-Cy7 を加え共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、PMA 処理群では、ROS に反応する Cy5 チャネルで蛍光強度の劇的な増加が見られた。また LPS/IFN-<math>\gamma</math>/PMA 処理群では、Cy5 チャネルで蛍光強度の劇的な増加が見られ、RNS に反応する Cy7 チャネルで蛍光強度が大きく減少した。これにより、生細胞で内因的に生成された ROS と RNS を検出できることが示唆された。次に、黄色ブドウ球菌と大腸菌にそれぞれ感染させた RAW264.7 細胞に HCy5-Cy7 を加え、蛍光強度を測定した。その結果、感染過程で ROS が生成されていることは明らかだが、RNS の産生が少ない可能性が示唆された。さらに、マウスに大腸菌と黄色ブドウ球菌をそれぞれ腹腔内注射し動物感染を誘発させた後、HCy5-Cy7 を尾静脈から注入し <i>in vivo</i> でイメージングを行った。その結果、ROS に対しての蛍光変化は顕著であったが、RNS に対しての蛍光変化はわずかなものであった。これにより、本モデルでの大腸菌と黄色ブドウ球菌の感染過程では、活性酸素ストレスが優勢な病態であることが証明された。</p> <p>以上のことより、HCy5-Cy7 は ROS と RNS を特異的に検出し、病態に対する ROS と RNS の相関を理解することに繋がることが期待される。</p>	