

## 局在型レシオ蛍光プローブを用いた細胞内局所 pH の定量イメージング

(東北大院生命<sup>1</sup>・東北大多元研<sup>2</sup>) ○岩下 誠<sup>1</sup>・小和田 俊行<sup>1,2</sup>・伊藤 理紗<sup>1</sup>・松井 敏高<sup>1,2</sup>・水上 進<sup>1,2</sup>

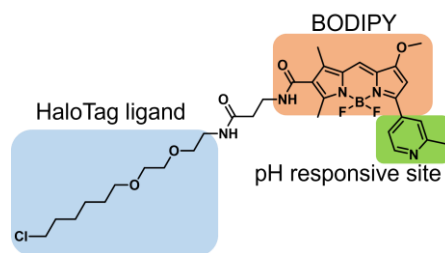
Quantitative imaging of intracellular local pH using a localizable ratiometric fluorescent probe (<sup>1</sup>Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, <sup>2</sup>Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University) ○Makoto Iwashita,<sup>1</sup> Toshiyuki Kowada,<sup>1,2</sup> Risa Ito,<sup>1</sup> Toshitaka Matsui,<sup>1,2</sup> Shin Mizukami,<sup>1,2</sup>

Mitophagy is selective autophagy of mitochondria and is associated with many diseases. In the process of mitophagy, mitochondria are transported to the lysosomes (pH 4.5–5), and the pH in the mitochondria dynamically changes from weakly basic (pH 8) to acidic. In recent years, many studies have been conducted to understand the mechanism of mitophagy by visualizing such dynamic intracellular pH changes<sup>1</sup>. In this presentation, we report on the development of a BODIPY-based pH probe with a chloroalkyl group that specifically reacts with the tag protein HaloTag. The excitation and emission wavelengths of the probe were red-shifted in response to acidification of solutions, suggesting that the probe can be used in live-cell ratiometric imaging. Furthermore, the probe was successfully localized to various intracellular organelles and visualized the mitochondrial pH change during mitophagy.

**Keywords :** Fluorescence imaging; pH probe; Mitophagy

マイトファジーはミトコンドリアの選択的オートファジーであり多くの疾患に関連することが知られている。マイトファジーにおいてミトコンドリアはリソソーム (pH 4.5–5) へと輸送され、ミトコンドリア内 pH は弱塩基性 (pH 8) から酸性へと変化することから、pH の可視化によってマイトファジーの機構を調べる研究が活発に行われている<sup>1</sup>。本研究では、

BODIPY 骨格を持ち、HaloTag と特異的に結合する蛍光 pH プローブ (Figure 1) を開発し、マイトファジーの可視化に取り組んだ。溶液 pH が塩基性から酸性に変化するに伴って、プローブの極大吸収波長が 508 nm から 532nm に、極大蛍光波長が 535 nm から 570 nm にそれぞれ長波長シフトした。また、蛍光スペクトル変化から算出した  $pK_a$  の値は 5.1 と、マイトファジーにおける pH 変化を観察するのに適した値であった。HeLa 細胞内に発現させた HaloTag へのラベル化によって、核・細胞質・小胞体・ミトコンドリア・リソソームへの本プローブの局在化が可能であった。さらに、レシオ蛍光測定により、マイトファジーを誘導した際のミトコンドリアの pH 変化の定量イメージングを行った。



**Figure 1.** Structure of a BODIPY-based pH probe.

1) X. Li, X. Liang, J. Yin, W. Lin, *Chem. Soc. Rev.*, **2021**, 50, 102–119