

活性酸素種と pH 変化の検出を指向したデュアル応答性発光プローブの開発

(京大院工) ○森本 崇・Wenting Huo・三木 康嗣・大江 浩一

Development of Dual-responsive Photoluminescent Probe for Detection of pH Change and Reactive Oxygen Species (Graduate School of Engineering, Kyoto University)
○Takashi Morimoto, Wenting Huo, Koji Miki, Kouichi Ohe

The overexpression of reactive oxygen species in cells is known to cause various malignant diseases like cancers and Alzheimer's disease. In previous research, we developed a dual-responsive bipyridyl probe and applied it to quantify pH as well as enzyme activities *in vitro*.^[1] In this research, we have developed a pH- and H₂O₂-responsive probe **1** and evaluated its H₂O₂-responsiveness under various pH conditions (Figure 1a). Probe **1** was transformed to weakly emissive **BP-PMB** by treating H₂O₂ in PBS (pH = 7.2). After adjusting pH value at 5, **BP-PMB** was smoothly converted to emissive **BP**, enhancing photoluminescence intensity at 475 nm by 5.4 times (Figure 1b). Although no photoluminescence was observed from HeLa cells treated with **1**, those treated with **1** and H₂O₂ emitted strong photoluminescence.

Keywords: bipyridyl; dual-responsiveness; photoluminescent probe; pH; hydrogen peroxide

細胞内における活性酸素種の過剰発現はがんやアルツハイマー病などの重大疾病につながる事が知られている。我々はこれまでに pH と酵素活性の定量が可能なビピリジルプローブを開発した^[1]。本研究では pH 応答性官能基、H₂O₂ 応答性官能基を持つビピリジルプローブ **1** を開発し、様々な pH 条件下における H₂O₂ に対する応答性を調査した (Figure 1a)。pH 7.2 の緩衝液中 H₂O₂ をプローブ **1** に作用させたところ、波長 475 nm に弱い発光が観測されたが、酸を加え pH を 5 に調整したところ、475 nm における発光強度は 5.4 倍に増大した (Figure 1b)。これらの現象は、中性条件下 H₂O₂ により **1** が変換され弱発光性の **BP-PMB** が生じ、さらに pH を下げることで PMB 基が脱離し発光性 **BP** が生じたことによると考えられる。HeLa 細胞に **1** を作用させたところ発光は観測されなかったが、**1** と H₂O₂ を作用させた HeLa 細胞からは発光が観測された (Figure 1c)。

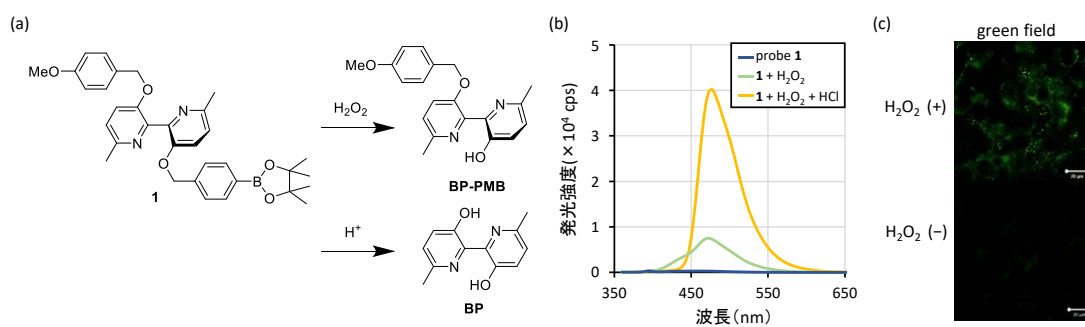


Figure 1. (a) Stepwise transformation of probe **1**. (b) Photoluminescence spectra of **1** (blue), **1** incubated with H₂O₂ for 60 min (green), and **1** incubated with H₂O₂ for 60 min and then incubated at pH 5 for another 60 min (yellow). (c) Confocal images of HeLa cells incubated with **1** and H₂O₂ or probe **1** only.

[1] W. Huo, K. Miki, D. Tokunaga, H. Mu, M. Oe, H. Harada, K. Ohe, et al. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2021**, *94*, 2068–2075.