

26M-am05

新規thiol修飾蛍光色素の開発

○松本 拓也^{1,2}, 浦野 泰照^{1,3}, 長野 哲雄^{1,2} (¹東大院薬, ²JST CREST, ³JST PRESTO)

生体内において、thiol はジスルフィド結合によって蛋白質の高次構造を維持したり、酸化型と還元型のグルタチオンの平衡によってレドックス状態を調節したりする働きを持っている。このため種々の thiol 修飾試薬が開発されてきたが、それらは thiol の求核性を利用して haloacetamide に対する S_N2 反応や maleimide に対する Michael 付加反応によって共有結合を作ることを原理とするものである。特に、反応点として maleimide を利用する蛍光試薬の場合、thiol との反応前は蛍光団から maleimide への光誘起電子移動 (Photoinduced electron Transfer; PeT) が起きるために蛍光が消光するが、thiol との反応後は PeT が起こらなくなり、蛍光が回復するという特徴がある。従来は maleimide による蛍光の消光を利用した蛍光試薬は紫外光励起の蛍光団に限られていたが、我々は最近、適切な分子設計を用いることで、可視光励起可能でこの特徴を生かした新規 thiol 修飾機能性蛍光色素を創製し、蛋白のラベル化に有用であることを明らかにした。

しかし、maleimide は水溶液中で加水分解により五員環が開き、バックグランド蛍光が増大すると共に thiol との反応性が低下するという問題点を持つ。この問題を解決するため、我々は、maleimide と同様に電子欠損 olefin を有する nitrostyrene 構造に着目した。nitrostyrene の電子欠損 olefin は、thiol による Michael 型の付加反応を受けると共に、PeT による蛍光の消光を起こすことが予想されるが、加水分解等の反応を起こさないため、水中で安定であると期待できる。この分子設計に基づき、nitrostyrene を反応点とし、thiol との反応によって蛍光量子収率が 17 倍と大きく増大する新規蛍光試薬を開発した。