

28PE-am005

cholinesterase 活性を検出する生物発光プローブの開発

○高倉 栄男^{1,2}, 浦野 泰照^{1,3}, 長野 哲雄^{1,2} (東大院薬, ²JST CREST, ³JST さきがけ)

【目的】生物発光法はプロットィングの検出やレポーター酵素など様々なアッセイ系に汎用されており、最近では *in vivo* 系にも利用されるなどその応用はますます広がりを見せている。我々は luciferase の基質特異性を利用して発光の on/off 制御を行うことで、従来の蛍光色素を用いる方法では実現できなかった標的分子に対する生物発光プローブの開発を目的とした。

【背景】cholinesterase (ChE) は神経伝達物質であるアセチルコリン(ACh)や消化管に多く存在するブチルコリン(BuCh)を代謝する非常に重要な酵素である。特にアセチルコリンの役割は多岐に渡り、それ故アルツハイマー病など様々な病気との関わりも示唆されている。しかし現在 ChE の活性を直接検出する方法は知られておらず、thiocholine の代謝から間接的に測定している。そこで、ChE 活性を直接検出するようなプローブの開発が待たれていた。

【方法・結果】これまで aminoluciferin を基本骨格として、6'位を修飾した誘導体は luciferase の基質になり強い発光を示すことを見出してきた。その中で、カチオンを有する基質は顕著に発光特性が低下することが分かった。そこで、6'位の先端に cholinester を有する aminoluciferin を合成すれば、ChE と反応する前はほとんど発光を示さないが、ChE により加水分解されカルボン酸になれば発光特性を回復する ChE プローブが開発できると考えられる。上記の分子設計に基づきデザインした ChE プローブを計5ステップにより合成した。得られたプローブを AChE または BuChE によるアッセイ後に luciferase と反応させたところ発光強度の回復がみられたことから、ChE の基質となっていると考えられる。現在、プローブの最適化及び条件検討を行っているところである。