

# 28M-am11

閉環・開環を制御原理とする新規酵素活性検出蛍光プローブの開発  
○坂部 雅世<sup>1,2</sup>, 浦野 泰照<sup>1</sup>, 長野 哲雄<sup>1,2</sup> (1東大院薬, 2JST-CREST)

【目的】 蛍光プローブは標的物質と反応することによって蛍光特性が変化する機能性分子であり、生理活性物質を生きたまま可視化できる。現在、蛍光プローブにはフルオレセインやローダミンなどのキサンテン系色素が用いられており、これらの色素は開環構造において強蛍光性を持つが、閉環構造では蛍光団の共役が切断されるため無吸収・無蛍光性となる。これを蛍光の off/on 制御に応用することでプローブの開発が可能となるが、これらの色素は閉環を達成するためにキサンテン環に 2 点の反応部位を有し、蛍光応答が多段階となるため定量性に乏しいといった問題点があった(図)。そこで 1 点の反応部位で閉環・開環を制御できる新たな蛍光プローブの開発を目指した。

【方法と結果】 ローダミン誘導体の蛍光特性を精査したところ、ローダミン類のベンゼン環 2 位のカルボキシル基を、より求核性の高いヒドロキシメチル基に変換した誘導体 1 が水中で開環構造をとり強蛍光性を示すのに対し、誘導体 1 のキサンテン環の一方の amino 基を amide とした 2 は、閉環構造をとることで無吸収・無蛍光性へと変化した。次にこの原理を応用しロイシニアミノペプチターゼ(LAP)に対するプローブを開発した。今回報告するプローブは、LAP 活性を定量的かつ高感度に検出可能であり、今後、市販の LAP プローブと速度論的に評価する予定である。

