

# 26PB-am191

Alkaline phosphatase 活性を検出する新規赤色蛍光プローブの開発

峯野 知子<sup>1</sup>, 眞下 翔<sup>1</sup>, 原田 恩<sup>2</sup>, ○村上 孝<sup>2</sup> (高崎健康福祉大薬 分子薬化学,<sup>2</sup>高崎健康福祉大薬 腫瘍生物学)

【背景】生体における細胞・組織傷害を検出する新規イメージング用プローブの開発は次世代の各種疾病検査や診断のプロセスの簡略化に欠かせない。Alkaline phosphatase (ALP)はアインザイムを含めて生体内に広く分布している。血中 ALP 濃度は主に肝機能障害や骨障害で上昇することが知られ、生化学的臨床検査として応用されている。本研究では、開発されたプローブの臨床応用を視野に入れ、プローブ蛍光団を生体透過性に優れた赤色領域に吸収・蛍光波長を有するプローブをデザインした。

【方法と結果】合成されたプローブ (KR-39)は側鎖にリン酸基を有した化学構造を持ち、蛍光団の消光が保たれている。ALP 酵素活性に依存してリン酸基の認識に伴い、蛍光団が遊離するシステムを構築した。リン酸モノエステル結合を加水分解する bacteria alkaline phosphatase (BAP: TaKaRa) 反応系に合成プローブ KR-39 を *in vitro* 室温にて添加したところ、用量依存的に最大吸収・蛍光波長約 600nm の顕著な赤色蛍光が観察された。さらに、ヒト腎臓由来 293T 細胞にヒト胎盤由来 ALP cDNA を一過性に過剰発現させた細胞抽出液を用いても、KR-39 由来の顕著な赤色蛍光が観察された。内在性 ALP の発現が顕著な小腸由来細胞株 intestine 407 (ATCC)および C57BL/6 マウスの小腸粘膜抽出液についても同様の赤色蛍光が観察できた。実際、ヒト胎盤由来 ALP を過剰発現させた 293T 細胞ならびに小腸由来 intestine 407 細胞に KR-39 を添加し、37℃、30 分間培養したところ、それぞれ細胞膜と細胞質に近赤外蛍光が観察された。

【考察】これらの結果から、ALPを標的とした赤色蛍光プローブ KR-39は生体レベルでの *in vivo* fluorescence imaging に向けた新しい候補物質となることが期待できる。