

26R-am02S

炭酸脱水素酵素を検出する off/on 型蛍光プローブの開発

○高橋 翔大^{1,3}, 花岡 健二郎¹, 浦野 泰照^{1,2,3,4} (¹東大院薬, ²東大院医, ³JST CREST, ⁴JST 研究加速課題)

【目的】 炭酸脱水素酵素 IX (CA IX) は低酸素環境下において細胞膜上での発現が上昇するタンパク質であり、低酸素環境マーカーの一つとして知られている。これまで生物学研究において CA IX は主に免疫染色によって検出されており、このタンパク質に対して蛍光が off から on へと変化する蛍光プローブを開発することで、生きたままで簡便に低酸素環境部位を可視化することが可能になる。

【方法】 一般に、蛍光団に直結する窒素原子に芳香環が結合した QSY-7 のような化合物は無蛍光性であることが報告されており (Figure 1a)、これは分子内回転に起因すると考えられている。そこで本研究では、分子内回転の制御を選択的なタンパク質の可視化へと応用することを目指した。具体的には、蛍光団に直結する窒素原子に芳香環を含むリガンド部位を結合させ、標的タンパク質との結合によって分子内回転が抑制され、蛍光が回復することを期待した (Figure 1b)。

【結果・考察】 CA のリガンドであるスルホンアミド基を芳香環に導入し、さらに種々の置換基を導入したところ、CA のサブタイプの一つ CAI との結合によって選択的に 20 倍の大きな蛍光上昇を示す化合物を見出すことに成功した。今後は、CA IX との結合により大きな蛍光強度の上昇を示すプローブの開発を行っていく。

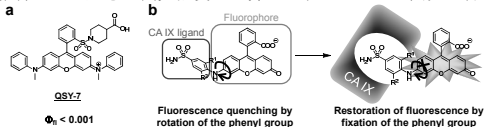


Figure 1. (a) Chemical structure of QSY-7, (b) Design of a fluorescent probe for carbonic anhydrases.