

26V-pm11S

アゾホルミル基を活用した新規 turn-on 型カルボキシペプチダーゼ活性検出蛍光プローブの開発

○河谷 稔¹, 神谷 真子^{1,2}, 浦野 泰照^{1,3,4} (¹東大院医, ²JST さきがけ, ³東大院薬, ⁴AMED CREST)

【目的】カルボキシペプチダーゼは、ペプチド鎖の C 末端アミノ酸を分解する酵素であり、がんや神経性疾患をはじめとして様々な生命現象や疾患との関連性が報告されている。しかしながら、分子設計の難しさから、その活性を生細胞で迅速に検出可能な turn-on 型可視光励起蛍光プローブは開発されていなかった。我々はこれまでに、ヒプリルアミノ酸構造を活用した分子内スピロ環化平衡制御に基づく分子設計を考案したが、一部のカルボキシペプチダーゼとの反応性が乏しい、基質部位を 2 箇所導入する必要があるなどの課題があり、別アプローチによる分子設計法の確立が求められていた。

【方法・結果】まず本研究では、前立腺がん等で高発現しており、がんマーカーとして臨床的にも重要なカルボキシペプチダーゼである PSMA(Prostate Specific Membrane Antigen)に着目し、その基質となる分子骨格を探索した。その結果、酵素反応に伴い特徴的な生成物を与えることが報告されているアゾホルミル基を有するベンゼン誘導体が PSMA の基質となることを見出した。続いて、酵素反応前後での大きな電子密度変化を利用した蛍光プローブの分子設計を行い、フルオレセインのベンゼン環部位に上記基質構造を導入した新規 PSMA 活性検出蛍光プローブを開発した。本プローブは、反応前は光誘起電子移動によって消光しているが、PSMA との反応に伴い基質アミノ酸が遊離すると、引き続き脱炭酸、脱窒素反応によりアゾホルミル基が脱離して強蛍光性のフルオレセインが產生することで、300 倍以上の蛍光強度上昇を示すことが明らかになった。さらに、生細胞における PSMA 活性も検出することが可能であった。また、基質アミノ酸を変更することで、PSMA 以外のカルボキシペプチダーゼ活性を検出可能なことも示された。