

刺激応答性プローブの創製
Development of Stimuli-Responsive Probes

京都大学大学院工学研究科物質エネルギー化学専攻 三木康嗣

研究成果概要

酵素応答性色素は、外部刺激が存在する時のみ発光するため、細胞中の酵素活性を追跡できる分子プローブとして注目されている。従来の分子設計では以下の問題点がある：(i) 酵素応答性部位が発光団の近傍に位置し、酵素応答性が悪い、(ii) 酵素応答性を向上させる自己犠牲リンカーを用いる場合、自己犠牲リンカーに由来する副生成物が発生する。本研究では、(a) 発光団から離れた位置に酵素基質を持ち酵素応答性が高い、(b) 酵素応答した後発生する官能基が発光団を活性化するという特徴を持つプローブ **1-C** を開発した (Figure 1a)。**1-C** がエステラーゼにより加水分解されるとカルボキシ基が生じ、これが消光基としてパイ共役系に付加しているメルカプト基を脱離させる活性化基として機能し、**2-C** が発光性の **2-O** へと変換される。ブタ肝臓由来エステラーゼの濃度依存的に発光強度が増加し、基質を含まない **3-C** ではエステラーゼ応答性を持たない (Figure 1b)。**1-C** がヒト子宮頸がん細胞 HeLa 内のエステラーゼに反応することも確認した (Figure 1c)。

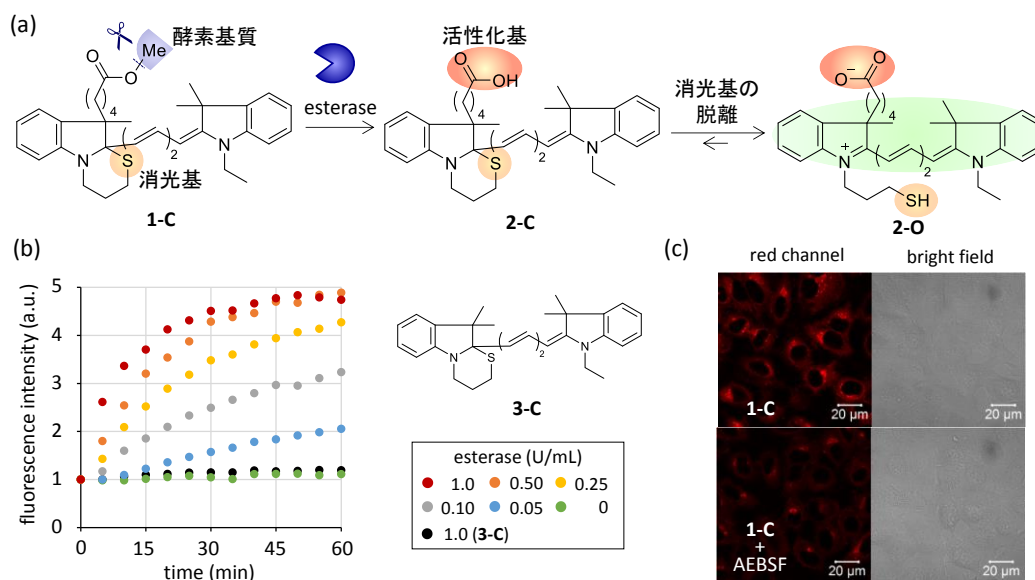


Figure 1. (a) Esterase-mediated transformation of **1-C** to **2-C**, followed by AiQd-based formation of **2-O**. (b) Time-dependent fluorescence intensity change at 670 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 650$ nm) of **1-C** or **3-C** (5.0 μM) with 0–1.0 U mL⁻¹ Porcine liver esterase. (c) Confocal imaging of HeLa cells incubated with **1-C** (1.0 μM) for 60 min ($\lambda_{\text{ex}} = 633$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 647$ –759 nm). The cells for the negative control were pretreated with AEBSF (inhibitor, 1.0 mM) for 30 min.

発表論文(謝辞あり)

M. Oe, K. Miki, K. Ohe, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 8620–8624.