

二つの異なるプロテアーゼ検出ユニットを併せもつ分子プローブの開発

(同志社大生命医) ○石田 星月・中村 祐士・太田 哲男・大江 洋平

Development of a Molecular Probe Bearing Two Different Protease Detection Units (Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University) ○Kirara Ishida, Yushi Nakamura, Tetsuo Ohta, Yohei Oe

A new molecular probe bearing two different protease detection units was designed and synthesized. Thus, a molecular probe bearing *L*-phenylalanine *p*-nitroanilide and *L*-lysine 4-methylcoumaryl-7-amide was prepared, in which these amino acid derivatives were connected through the succinic acid spacer. Trypsin and papain were detected by blue fluorescence emission of the coumarin. Chymotrypsin and nattokinase were detected by both the blue fluorescence emission and the UV absorbance of *p*-nitroaniline. In the case of nattokinase, both the fluorescence emission and UV absorbance slowly increased. In contrast, increasing the UV absorbance were saturated at the early stage of the reaction when chymotrypsin was used, whereas the fluorescence emission continuously increased after that. These differences in time course indicate the difference in the enzyme selectivity.

Keywords : fluorescent molecular probe; enzymatic activity; FRET; dye

Fig.1 に示すような二つの異なるプロテアーゼ検出ユニットを併せもつ新しい分子プローブを設計、合成した。この分子プローブを用いると、トリプシンとパパインはクマリンの青色蛍光発光のみで検出される (**Fig. 1-b**) が、キモトリプシンとナットウキナーゼは青色蛍光発光と *p*-nitroaniline の発色の両方の情報から検出される (**Fig. 1-a, b**) ことがわかった。キモトリプシンとナットウキナーゼでは二つのユニットの分解選択性が異なり、選択性 (*p*-nitroaniline の収率/クマリンの収率) はキモトリプシン用をいた場合が 1.15 であるのに対し、ナットウキナーゼでは 0.18 となり、その選択性の違いからもプロテアーゼの種類を識別できる可能性がある。このように、本プローブを用いることでプロテアーゼの種類を *p*-Nitroaniline および MCA の放出バランスによって区別できる。また、蛍光発光と UV 吸光度の経時変化を追うことでプロテアーゼの基質選択性を詳細に議論できる可能性がある。

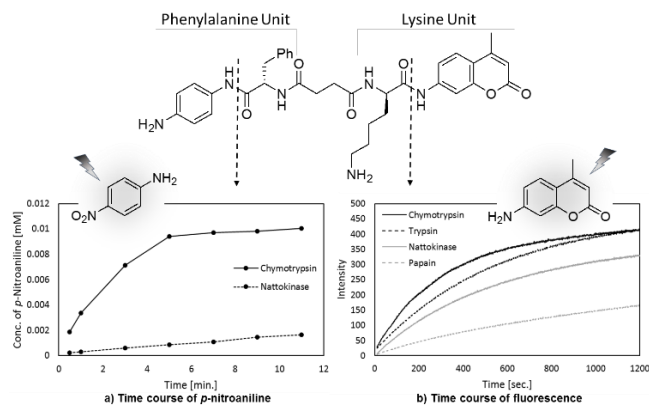


Fig. 1 Reaction of Probe.