

酵素活性と活性酸素種の検出を指向したデュアル応答性発光プローブの開発

(京大院工) ○高山公平・鈴木絢子・Wenting Huo・森本崇・Huiying Mu・三木康嗣・大江浩一

Development of Dual-responsive Photoluminescent Probe for Detection of Enzyme Activity and Reactive Oxygen Species (*Graduate School of Engineering, Kyoto University*) ○Kohei Takayama, Ayako Suzuki, Wenting Huo, Takashi Morimoto, Huiying Mu, Koji Miki, Kouichi Ohe

As many physiological functions require multiple bioactive compounds acting synergistically, it is critical to determine their location. However, the molecular design and functional control of molecular probes are very difficult. In our previous research, we synthesized a dual-responsive bipyridyl probe and applied it to quantify pH as well as enzyme activities *in vitro*.¹ In this research, we have developed dual-responsive probes to simultaneously detect the increment of enzyme activity and reactive oxygen species, and have evaluated their photophysical properties and dual responsiveness.

Keywords: dual-responsive photoluminescence probe, enzyme activity, reactive oxygen species

細胞内の複数の刺激に特異的に応答し発光するプローブは、複雑な生理機能を明らかにするために有用なツールである。しかし、その分子設計や機能制御は困難であり、報告例は少ない。我々はこれまでにビピリジル骨格をもつデュアル応答性プローブを合成し、生体内での酵素活性に加えて pH の定量を実現した¹⁾。しかし、吸収波長 (350 nm) が短いことが生体応用を妨げている。本研究では、吸発光波長の長波長化を目指し、 π 共役系を拡張した 2-pyridylisoquinoline 骨格をもつデュアル応答性プローブ **1** を設計した。プローブ **1** は、2つの置換基間の立体的な反発によりねじれた構造となるため、発光を示さない。プローブ **1** に豚肝臓エステラーゼ (PLE) を作用させると、脱アセチル化により、弱い蛍光を発する中間体 **2** を生じた。さらに、中間体 **2** は酸性条件下で *p*-methoxybenzyl (PMB) 基が脱保護され、強い蛍光を発する分子 **3** に変換された。A549 細胞にプローブ **1** を 90 分間作用させた後、共焦点顕微鏡で撮影した画像では、A549 細胞から強い蛍光が観察された。さらに、プローブ **1** の置換基を PMB 基から *p*-pinacolatoborylbenzyl (PBB) 基に変えることにより、酵素活性と同時に活性酸素種の増加を検出するプローブ **1'** を合成し、光物性およびデュアル応答性を評価した。

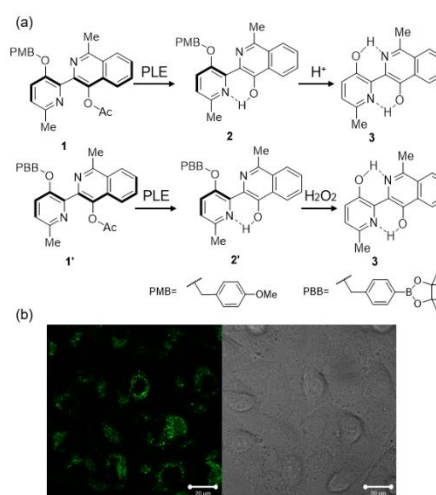


Figure 1. (a) Activation process of probes **1** and **1'**. (b) Confocal images of A549 cells after incubating with probe **1** for 1.5 h.

1) Huo, W.; Miki, K.; Tokunaga, D.; Mu, H.; Oe, M.; Harada, H.; Ohe, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2021**, *94*, 2068–2075.