

審査の結果の要旨

氏名 河谷 稔

本研究は、光化学反応の一つである光誘起電子移動 (PeT) の制御を活用した分子設計を行うことで、生体機能の光操作やがんイメージングに有用な光機能性有機小分子の開発を行ったものである。具体的には以下の2つのテーマについて研究を行い、それぞれについて後述の結果を得ている。

- ① 緑色蛍光団 BODIPY を母核とした高いアンケージ量子収率を有する可視光分解性ケージ基の開発
- ② カルボキシペプチダーゼ活性を検出する蛍光プローブの開発

① 緑色蛍光団 BODIPY を母核とした高いアンケージ量子収率を有する可視光分解性ケージ基の開発

1. BODIPY を母核とした光分解性保護基 (BODIPY ケージ基) は、紫外光で励起される従来のケージ基と比較して、光毒性の小さい 500 nm 以上の長波長光照射によってアンケージ可能なケージ基である。一方で、低いアンケージ量子収率が生物学研究での活用における課題となっていた。本研究では、BODIPY ケージ基の光化学反応が PeT を初発とした電荷分離状態を経由して進行するという作業仮説に基づき、電荷分離状態の寿命や脱離能を様々に有すると考えられる誘導体群を設計・合成し、高いアンケージ量子収率を有する誘導体を探索した。その結果、アンケージ量子収率は、PeT の自由エネルギー変化が一定付近で高い値を示し、高すぎても低すぎても低下する傾向が見出された。そして、これらの検討を通じて従来よりも約 2.1 倍高いアンケージ量子収率を有する誘導体を見出すことに成功した。
2. 様々な溶媒中において BODIPY ケージ基のアンケージ量子収率を測定したところ、低極性溶媒中においてアンケージ量子収率が大きく向上することを見出し、ヘキサン中において最大で約 1.5% に達することが明らかになった。
3. 細胞内低極性環境である細胞内膜から、イオンチャネル TRPV1 のアゴニスト PAVA を 500 nm 光照射で放出・活性化可能な BODIPY ケージ基を活用したケージド化合物 BDP-CAP を設計・合成した。BDP-CAP は十分に高いアンケージ量子収率を有し、実際に細胞内膜に局在化することが明らかになった。
4. TRPV1 発現細胞に BDP-CAP を添加し 500 nm 前後のレーザー光を照射することで、TRPV1 を光照射依存的に活性化させることに成功した。

② カルボキシペプチダーゼ活性を検出する蛍光プローブの開発

5. これまでにアミノペプチダーゼ活性やエンドペプチダーゼ活性を検出する様々な蛍光プローブが開発され、それら活性が亢進するがんを始めとした疾患の蛍光イメージングが達成された。一方で、カルボキシペプチダーゼ活性を検出する蛍光プローブはほとんど開発がなされておらず、その分子設計の確立は大きな課題であった。本研究は臨臨床的にも重要なカルボキシペプチダーゼである PSMA を標的酵素として、自発的な脱炭酸・脱窒素反応を活用した新たな分子デザインに基づき PSMA 活性を検出する蛍光プローブの開発を行った。
6. PSMA の基質アミノ酸であるグルタミン酸の加水分解に続いて自発的な脱炭酸・脱窒素反応を示す、ウレア・カーバメート・アゾホルミルといった構造を有するベンゼン誘導体を設計・合成し、PSMA と反応させたところ、アゾホルミルを有するベンゼン誘導体が PSMA に基質として認識され、加水分解されることが明らかになった。
7. 強い電子求引性を有するアゾホルミルをベンゼン環部位に有するフルオレセイン誘導体は、PeT により水溶液中で強く消光することが予測され、実際に合成したフルオレセイン誘導体 5-fluAFGlu および 6-fluAFGlu は極めて低い蛍光量子収率を示した。
8. 5-fluAFGlu は PSMA と反応を示さなかった一方で、6-fluAFGlu は PSMA と反応し、フルオレセインを放出することで 400 倍以上の蛍光上昇を示した。すなわち、6-fluAFGlu は極めて高感度な PSMA 活性検出蛍光プローブであることが明らかになった。
9. PSMA 活性検出蛍光プローブ 6-fluAFGlu は、前立腺がん細胞ライセートや生細胞において特異的に PSMA 活性を検出可能であることが示された。
10. PSMA 活性検出蛍光プローブ 6-fluAFGlu の水溶液を、がんを含むヒト前立腺切除検体とインキュベーションしたところ、がんを含まない前立腺切除検体と比較して高い蛍光上昇を示す結果が得られた。

以上、本論文では、PeT 制御を活用した分子設計を検討することで、長波長光で効率よくアンケージ可能な新規ケージド化合物や、PSMA 活性を検出する世界初の蛍光プローブといった有用な特性を有するケミカルプローブの開発に成功した。本研究は、これまで性能が不十分であったり開発が困難であったりしたケミカルプローブを、新しいコンセプトに基づいて設計から合成、その性能の検証まで一貫して行っており、見出された知見や開発に成功した分子は、今後のケミカルプローブ開発や基礎生物学研究・診断技術開発において重要な貢献をなすと考えられる。よって学位の授与に値するものと考えられる。