

酵素反応に伴う凝集体形成を活用した activatable 型ラマンプローブによる選択的 *ex vivo* イメージング

○藤岡礼任¹・河谷稔^{1,2}・浦野泰照^{2,3}・小幡史明⁴・小関泰之⁵・神谷真子^{1,6} (1 東工大生命理工、2 東大院医、3 東大院薬、4 理研 BDR、5 東大先端研、6 東工大国際先駆研究機構)

Activatable Raman probe utilizing enzyme-induced aggregate formation for selective *ex vivo* imaging
(Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology¹, Graduate School of Medical Sciences, The University of Tokyo², Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo³, RIKEN BDR⁴, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo⁵, Living Systems and Materialogy Research group, Tokyo Institute of Technology⁶) FUJIOKA, Hiroyoshi¹; KAWATANI, Minoru^{1,2}; URANO, Yasuteru^{2,3}; OBATA, Fumiaki⁴; OZEKI Yasuyuki⁵; KAMIYA, Mako^{1,6}

ラマン顕微法は、無染色または微小アルキンタグを用いた生体分子の可視化、多重標識タグを用いた多色イメージングなどで近年注目を集めている。我々はこれまでに、共鳴ラマン効果を活用することで、標的酵素との反応によってはじめてラマン信号が on となる activatable 型ラマンプローブの開発に成功してきた¹が、開発したラマンプローブは細胞内滞留性が低く、生体組織の標的酵素発現領域を特異的に検出することは困難であった。そこで本研究においては、このような課題を克服可能なラマンプローブ開発に着手した。

具体的には、先行研究でプローブ母核色素として用いた 9CN-pyronin 誘導体の 3 位のアミノ基をヒドロキシ基に置換した 9CN-rhodol 誘導体が、中性条件下で高い凝集性を有することに着目し、酵素反応後に生成する色素の凝集体形成によって細胞内滞留性が向上し、標的酵素発現領域のみを選択的に検出可能になると考えた。そこで、最適な 9CN-rhodol 骨格を探索するべく種々の誘導体を合成し、その特性を評価した。その結果、9CN-JCR を最適なプローブ母核として選定し、異なるグリコシダーゼやアミノペプチダーゼを標的とした 3 種類のラマンプローブを開発することで、生きた細胞における 3 種類の酵素活性の同時検出に成功した。さらに、開発した 9C¹⁵N-JCR-Bn-βGal は、酵素反応後の凝集体形成によって組織においても標的酵素である β-galactosidase の発現領域を特異的に検出することが可能であった²⁾。

1) H. Fujioka, J. Shou, R. Kojima, Y. Urano, Y. Ozeki, M. Kamiya, *J. Am. Chem. Soc.*, **142**, 20701–20707 (2020)

2) H. Fujioka, M. Kawatani, S. Spratt, A. Komazawa, Y. Misawa, J. Shou, T. Mizuguchi, H. Kosakamoto, R. Kojima, Y. Urano, F. Obata, Y. Ozeki, M. Kamiya, *J. Am. Chem. Soc.*, **145**, 8871–8881 (2023)

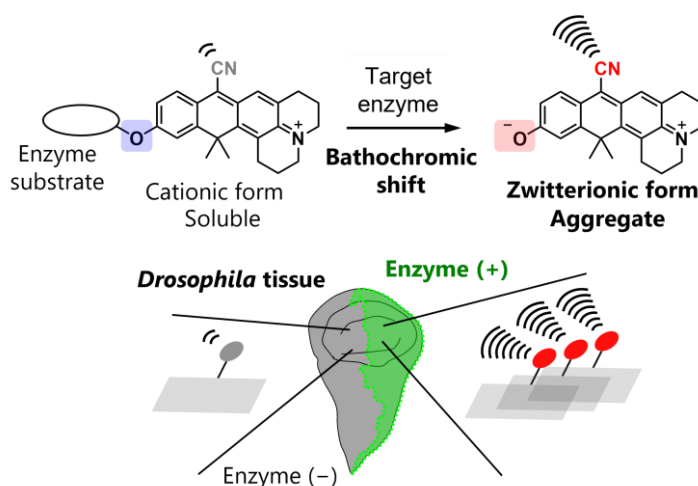


Fig. 1 Schematic illustration of activatable Raman probe utilizing enzyme-induced aggregate formation for selective *ex vivo* imaging.