

アカデミックプログラム [B講演] | 17. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー：口頭B講演

2026年3月17日(火) 15:55 ~ 17:15 | 会場 H934 (9号館 [3階] 934)

[H934-1vn] 口頭B講演

座長：西原 達哉、藤岡 礼任

◆ 日本語

15:55 ~ 16:15

[H934-1vn-01] 機能性核酸プローブのビーズ集積制御による多成分生体分子の一斉計測技術の創出

○菅原 正人¹、三尾 玲緒斗¹、西原 達哉¹、田邊 一仁¹ (1. 青山学院大学)

◆ 日本語

16:15 ~ 16:35

[H934-1vn-02] カルボキシペプチダーゼ活性を可視化するイメージングプローブ

○河谷 稔¹、沖中 桃子²、出口 海斗³、浦野 泰照^{2,4}、小関 泰之⁵、神谷 真子¹ (1. 東京科学大総合研究院、2. 東大院薬、3. 東京科学大生命理工、4. 東大院医、5. 東大先端研)

◆ 英語

16:35 ~ 16:55

[H934-1vn-03] Development of a photoacoustic probe for the detection of HOCl-positive Acute Myeloid Leukemia

○Julia Laura McAfee¹, Ruwen Yin¹, Frederik Brøndsted^{1,2}, Yuan Fang¹, Joshua Sykes¹, Jerimiah D Moore¹, Harry R Shield¹, Reilly O'Brein¹, Madeline Loht¹, Cliff I Stains^{1,3,4} (1. Department of Chemistry, University of Virginia, 2. Department of Biomedical Engineering, Oregon Health and Science University, 3. University of Virginia Cancer Center, 4. Virginia Drug Discovery Consortium)

◆ 日本語

16:55 ~ 17:15

[H934-1vn-04] 9CN-pyroninの10位構造展開に基づくマルチカラー振動イメージング

金井 駿介¹、○藤岡 礼任¹、村尾 侑大¹、小関 泰之²、神谷 真子¹ (1. 東京科学大学、2. 東京大学)

機能性核酸プローブのビーズ集積制御による多成分生体分子の一斉計測技術の創出

(青山学院大理工) ○菅原 正人・三尾 玲緒斗・西原 達哉・田邊 一仁

Development of Multiplex Biomolecule Sensing Technology Based on Beads Accumulation Control of Functional DNA Probes (College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University) ○Masato Sugawara, Reoto Mio, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Simultaneous analysis of biomolecules is vital for advanced diagnosis, but conventional fluorescent probes are limited by spectral overlap. We developed a multiplex detection method utilizing sequence-dependent DNA hybridization. We established two approaches: one driven by chemical reactions, where the target removes a reactive tag from the phosphate backbone of a DNA probe, restoring its ability to hybridize with a bead-bound strand; and another by molecular recognition, where target binding to an aptamer releases a fluorescent single-stranded DNA for bead capture. Both methods quantify targets via fluorescence intensity derived from DNA probes on beads. By distinguishing fluorescent beads to identify specific DNA sequences, we successfully achieved simultaneous multi-component detection within a single solution.

Keywords : DNA Encoding; Multiplex Analysis

疾患診断の高度化において、生体試料中に含まれる生体分子の一斉解析は重要課題である。しかし、従来の小分子ベースの蛍光プローブはスペクトル重複により、同一溶液内での同時検出数が制限される。

本研究では、DNA の配列依存的な二重鎖形成能を活用し、複数の生体分子を同時検出する手法の構築を試みた。具体的には、標的分子の性質に応じて二つの異なる検出手法を構築した。第一の手法は、化学反応を駆動力とするものである。DNA プローブのリン酸部位に標的分子との反応により脱離する反応点を導入した¹⁾。未反応状態では、二重鎖形成能が低下しているが、標的分子との反応に伴い反応点が脱離すると T_m 値が回復し、ビーズ上の相補鎖と二重鎖を形成し、捕捉される。第二の手法は、分子認識を駆動力とするものである。DNA アプタマーと蛍光標識 DNA が部分的に二重鎖形成した複合体を用いた。標的分子の認識に伴う構造変化により二重鎖が解離し、遊離した蛍光標識一本鎖 DNA がビーズに捕捉される。いずれの方法も、ビーズに集積した DNA 由来の蛍光強度により、標的を定量する。さらに、ビーズ識別用の蛍光を取得することにより、集積した DNA 配列を識別し、単一溶液内での同時多成分検出を実現した。

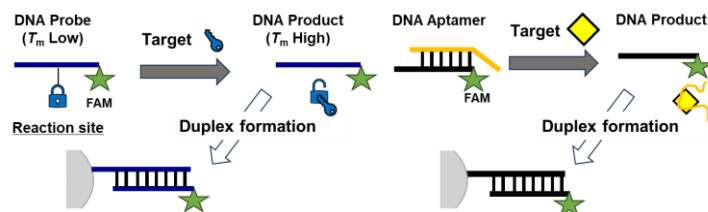


Figure 1. Strategy for the multiplex biomolecular detection in this study.

1) T. Nishihara, M. Sugawara, R. Mio, Y. Motohashi, K. Tanabe, *Chem. Biomed. Imaging*, **2026**, in press, DOI: 10.1021/cbmi.5c00226.

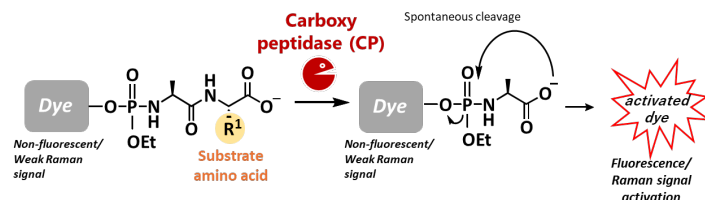
カルボキシペプチダーゼ活性を可視化するイメージングプローブ

(東京科学大総合研究院¹・東大院薬²・東京科学大生命理工³ 東大院医⁴ 東大先端研⁵) ○河谷 稔¹・沖中 桃子²・出口 海斗³・浦野 泰照^{2,4}・小関 泰之⁵・神谷 真子¹
 Chemical Probes for Optical Imaging of Carboxypeptidase Activity (¹*IIR, Science Tokyo*, ²*Grad. Schl. of Pharm. Sci., The Univ. of Tokyo*, ³*Dep. Life Sci. Tech., Science Tokyo*, ⁴*Grad. Schl. of Med., The Univ. of Tokyo*, ⁵*RCAST, The Univ. of Tokyo*) ○Minoru Kawatani,¹ Momoko Okinaka,² Kaito Deguchi,³ Yasuteru Urano^{2,4}, Yasuyuki Ozeki⁵, Mako Kamiya¹

Carboxypeptidases (CPs) are enzymes that hydrolyze C-terminal amino acids of peptides, and their abnormal expression has been associated with diseases such as cancer. Recently, by applying ProTide chemistry, we established a fluorescent probe design in which CP reactions trigger spontaneous decomposition, releasing a highly fluorescent dye. Using this strategy, we developed a fluorescent probe to visualize carboxypeptidase M (CPM) activity, which is highly expressed in breast cancer. However, the number of colors simultaneously visualized by fluorescence imaging is limited to 3–4 due to spectral overlap. To overcome this limitation, we focused on Raman imaging, which offers spectral bandwidths more than 50 times narrower than fluorescence. We developed Raman probes to visualize the activities of prostate-specific membrane antigen²), a glutamate CP overexpressed in prostate cancer, as well as CPM. In this presentation, we report applications of the developed probes in live-cell Raman imaging.

Keywords : Carboxypeptidase; Fluorescence; Raman; ProTide Chemistry; Cancer imaging

カルボキシペプチダーゼ (CP) はペプチド鎖 C 末端アミノ酸を加水分解する酵素であり、その異常な発現亢進はがんなどの疾患との関連が報告されている。したがって CP 活性を可視化する手法は疾患部位をイメージングする有用なツールとなりうる。近年我々は、プロドラッグ分子設計法である ProTide 化学を応用し、CP との反応をトリガーとした自発的分解反応を経て強蛍光性色素を放出する CP 活性検出蛍光プローブの分子設計法を確立し、乳がんなどで高発現している carboxypeptidase M (CPM) 活性を高感度に可視化する蛍光プローブの開発に成功した。¹⁾ 一方、蛍光イメージングではスペクトルの重なりにより同時に検出可能な酵素活性が 3~4 種類に限られるという課題があった。そこで、蛍光よりもスペクトル半値幅が 50 倍以上狭いラマンイメージングに着目し、CP 活性を可視化するラマンイメージングプローブを開発した²⁾。これまでに前立腺がん膜抗原 (PSMA)²⁾や CPM を標的としたラマンプローブを開発しており、今年会では生細胞ラマンイメージングへの応用について報告する。



1) Y. Kuriki, M. Sogawa, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, 146, 521.

2) M. Okinaka, M. Kawatani, et al., *Anal. Chem.* **2025**, 97, 19057.

Development of a Photoacoustic Probe for the Detection of HOCl-Positive Acute Myeloid Leukemia

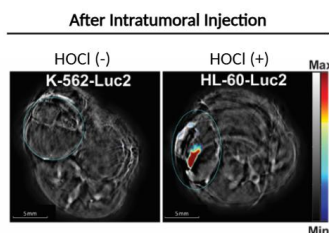
(¹Department of Chemistry, University of Virginia, ²Department of Biomedical Engineering, Oregon Health and Science University, ³University of Virginia Cancer Center, ⁴Virginia Drug Discovery Consortium) ○ Julia L. McAfee,¹ Ruwen Yin,¹ Frederik Brøndsted,^{1,2} Yuan Fang,¹ Joshua Skyes,¹ Jerimiah D. Moore,¹ Harry R. Shield,¹ Reilly O'Brein,¹ Madeline Loht,¹ and Cliff I. Stains^{1,3,4}

Keywords: Companion Diagnostic, Near-Infrared Dyes, Photoacoustic Imaging, Molecular Imaging, Acute Myeloid Leukemia

Targeted treatments for Acute Myeloid Leukemia (AML) are currently lacking. Our lab, and others, has proposed the development of chemical approaches to target aberrant production of hypochlorous acid (HOCl) in AML as a means to selectively deliver cytotoxins to AML cells.^{1,2} To complement these efforts, companion diagnostics are needed to identify patients with HOCl-positive disease. Herein, we disclose a loud photoacoustic (PA) probe for detecting HOCl-positive AML cells *in vitro* and in localized animal models of disease.

Our lab previously demonstrated that the relative loudness of small molecule photoacoustic probes can be compared via Acoustic Loudness Factor ($ALF = k_{nr} * \epsilon$).³ Among a library of different dye classes including cyanine, hemi-cyanine, rhodamine, and oxazine derivatives, we showed that azaphosphinate dyes have equivalent photoacoustic output compared to gold standards in the field. Based on these findings, we selected NR₇₅₁, one of our loudest dyes, and incorporated a chemoselective trigger for HOCl to develop NR₇₅₁-HOCl, a loud turn-on photoacoustic probe for HOCl.

NR₇₅₁-HOCl displays remarkable selectivity for HOCl amongst other reactive oxygen and nitrogen species *in vitro* as well as in cultured cells. Using this probe, we observed an HOCl-dependent 4.6-fold PA turn-on in tissue phantoms and were able to identify HOCl-positive AML cells with a 6.1-fold turn-on in localized mouse models. In the long term, we envision utilizing HOCl-triggered companion diagnostics to select AML patients that would respond to HOCl-targeted therapeutic platforms.



1) Brøndsted, F. and C. I. Stains, *Chem. Eur. J.* **2024**, 30, e202400598. 2) Fang, F., Zhou, X., McAfee, J.L., et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2025**, 147, 40590-40602. 3) Brøndsted, F., McAfee, J.L., Moore, J.D. et al. *Nat Commun.* **2025**, 16, 3779.

9CN-pyronin の 10 位構造展開に基づくマルチカラー振動イメージング

(東京科学大生命理工¹・東京科学大化生研²・東大先端研³) 金井 駿介¹・○藤岡 礼任²・村尾 侑大¹・小関 泰之³・神谷 真子²

Multicolor Vibrational Imaging Based on 10th Structural Evolutions of 9CN-pyronin (¹*Department of Life Science and Technology, Institute of Science Tokyo*, ²*Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Science Tokyo*, ³*Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo*) Syun-suke Kanai,¹ ○Hiroyoshi Fujioka,² Yuta Murao,¹ Yasuyuki Ozeki³, Mako Kamiya²

Raman imaging has been attracted as a multiplexed imaging method since Raman spectra have 50–100 times narrower line width compared to fluorescence spectra. Among Raman imaging probes, 9CN-pyronins were known as high-sensitive probes utilizing resonance Raman effect, however, their vibrational properties were limited because the 10th core atoms of xanthene ring were mostly limited to O, C and Si. In this study, we aimed at expanding various kinds of derivatives to expand vibrational properties of 9CN-pyronins.

First, we developed CN-HG derivatives, which eliminated the bridge structure at the 10th position of 9CN-pyronins, and we found their Raman shifts of the nitrile group were highly redshifted compared to those of O, C, Si-cored 9CN-pyronins. Moreover, their vibrational signatures were detected even with spontaneous Raman due to the well-quenched fluorescence. Next, we developed fourteen kinds of novel X-cored 9CN-JXPs with systematic structural derivatization at the 10th position, and found that both nitrile and C=C vibrations varied depending on the core structure. Furthermore, as these derivatives showed different subcellular localization in live cells, we achieved multicolored cell imaging with 9CN-JXPs.

Keywords : Raman probe; 9CN-pyronin; multicolor; vibrational imaging

ラマンスペクトルは蛍光スペクトルと比べて線幅が 50–100 倍狭いため、ラマンイメージングは多重検出に秀でたイメージング手法として注目を浴びている。これに用いられるラマンプローブとして、キサンテン環 9 位にニトリルタグを有する 9CN ピロニン誘導体は共鳴ラマンを利用した高感度なプローブであることが知られているが、プローブとして報告されている誘導体はキサンテン環 10 位の元素が主に O, C, Si であり、振動特性の拡張性には限りがあった。そこで本研究では、9CN ピロニン誘導体の振動特性を拡張するべく種々の誘導体の開発を行った。

はじめに 10 位の架橋構造を除いた無架橋型色素 CN-HG 誘導体¹⁾を開発したところ、10 位元素が O, C, Si の 9CN ピロニン誘導体と比べてニトリルの振動数が大きく低波数シフトすることが確認された。また、無架橋型構造により蛍光性が消失したことにより自発ラマンでの検出も可能であることが確認された。さらに、10 位元素を種々に置換した計 14 種類の 9CN-JXP 誘導体を開発してその特性を精査したところ、これらのニトリル振動および C=C 振動がその構造に応じてそれぞれ異なることを見出した。これらの誘導体は構造ごとに異なる細胞内局在を示すことが確認され、局在の異なる 9CN-JXP 誘導体を組み合わせたマルチカラー細胞イメージングを達成した。

1) Cyano-Hydrol green derivatives: Expanding the 9-cyanopyronin-based resonance Raman vibrational palette. H. Fujioka et al, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2024**, *106*, 129757.