

A1-07

オリジナルラマンプローブの開発による酵素活性の高精度イメージング

神谷真子（東工大・生命理工）

近年、蛍光イメージングの「色数の壁」を打破し、細胞内の多数の標的分子を同時検出する手法として、ラマンプローブを用いた多重検出法が注目を集めている。つまり、アルキン・ニトリルなどの官能基を用いたラマンスペクトルは、蛍光スペクトルと比較して 50-200 倍シャープであるため、細胞における多数の標的分子を同時検出する手法として期待されている。そこで我々は、ラマン信号強度を制御する原理を確立するとともに、それに基づく機能性ラマンプローブを開発することを目的とした。

具体的には、分子の電子吸収帯から離れた波長の光で励起する「非共鳴条件」よりも、分子の電子吸収帯よりもやや長波長の光で励起する「前期共鳴条件」の方がラマン散乱信号が飛躍的に増大する現象（共鳴ラマン効果）に着目し、この検出感度の違いを活用することで、ラマン信号の off/on が制御できるか検討した。また、本原理に基づき、細胞内の生体分子と反応することでラマン信号強度が変化する機能性ラマンプローブの開発を検討した。

まず初めに、9 位に CN 基を導入した種々のキサンテン誘導体を合成し、吸収波長特性・安定性を評価した結果、9CN-JCP を有用な母核として見出した。次に、9CN-JCP のアミノ基にアミド結合を介して基質部位を導入した誘導体は、酵素反応前後で吸収波長が変化し、共鳴ラマン効果の有無によりラマン信号が off から on に変化することを示した。さらに、CN 基の同位体置換によってラマンシフト値が変化することを利用して、数種類の酵素活性を異なるラマンシフト値で同時検出可能な activatable 型ラマンプローブを開発し、生きた細胞内における複数の酵素活性を同時にイメージングすることに成功した¹⁾。一方で、9CN-JCP を母核としたラマンプローブは、酵素反応生成物の細胞内滞留性が低く細胞外へ漏出してしまうため、生体組織中の標的酵素発現領域を特異的に検出することが困難であった。そこで、新たな母核として 9CN-rhodol 誘導体に着目し、その凝集性の高さを活用することで、組織中の標的酵素発現領域を特異的に検出可能なラマンプローブを開発した。種々の 9CN-rhodol 誘導体を合成して分光特性・安定性を評価したところ、9CN-JCR を有用な母核として見出した。次に、9CN-JCR を母核として β -galactosidase を標的としたラマンプローブを開発し、ショウジョウバエ組織に適用した。その結果、従来型プローブでは、酵素反応生成物が細胞外へ漏出してしまい、酵素発現領域を特異的に検出することができなかったが、新たに開発したプローブでは、生成した色素母核が標的細胞内で凝集体を形成するため、標的酵素発現領域を特異的に検出できることが示された。以上、共鳴ラマン効果を利用して、ラマン信号の off/on を制御する分子設計法を確立し、さらに凝集効果を掛け合わせることで、組織中の標的酵素発現領域を特異的に検出できる activatable ラマンプローブの開発に成功した²⁾。

今後、確立した分子設計法に則り機能性ラマンプローブ群を拡張し、細胞や組織における多数の分子を同時に検出できるようになれば、生命現象をより包括的に理解できるようになると期待される。

1) H. Fujioka et al, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 20701.

2) H. Fujioka et al, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 8871.

PROFILE

神谷真子（東京工業大学生命理工学院 教授）

① 2003 年東京大学薬学部薬学科卒業，2005 年同大学院分子薬学専攻修士課程，2008 年博士課程修了．スイス連邦工科大学博士研究員、東京大学大学院医学系研究科 助教・講師・准教授、JST さきがけ研究者（兼務）を経て、2022 年より現職．②ケミカルバイオロジー、③2016 年 平成 28 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞、2021 年 第 3 回 輝く女性研究者賞 科学技術振興機構理事長賞