

複数酵素活性の同時検出が可能な activatable 型ラマンプローブ

(東大院薬¹・東大院医²・東大院工³) ○藤岡 礼任¹・神谷 真子²・寿 景文³・小関 泰之³・浦野 泰照^{1,2}

Multicolor Activatable Raman Probes for Simultaneous Detection of Plural Enzyme Activities (Graduate School of¹Pharmaceutical Sciences, ²Medicine, and ³Engineering, The University of Tokyo University) ○Hiroyoshi Fujioka¹, Mako Kamiya², Jingwen Shou³, Yasuyuki Ozeki³, Yasuteru Urano^{1,2}

Raman microscopy has been developed as one of the important imaging modalities which can detect vibration frequencies to characterize molecular species without labeling. Further, the combination with small Raman tags such as alkynes enables us to visualize specific target molecules in live cells. However, in general, existing Raman tags show constant Raman shift and signal intensity, thus its usage has been limited as labeling agents. In the last year's annual meeting, we reported activatable Raman imaging probes (9CN-JCP probes) whose Raman signal is activated upon reaction with the target enzymes, by utilizing a phenomenon that the Raman signal intensity increases remarkably under electronic pre-resonance (EPR) conditions, in which a molecule is excited at 100–200 nm longer wavelength than its molecular absorption. In this year, by utilizing the phenomenon that the Raman shift can be tuned by the isotope substitution of CN group of 9CN-JCP probes, we developed four activatable Raman imaging probes, which can simultaneously detect enzymatic activities of aminopeptidases and a glycosidase at different Raman shifts. Further, by applying the four Raman probes simultaneously to live cells, we succeeded in simultaneous imaging of these enzyme activities in live cells, and the probes can visualize the different patterns of the four enzyme activities in two types of cancer cells¹⁾.

Keywords : Raman Probe; Activatable; Enzyme Activity; Simultaneous Detection; Imaging

ラマン顕微法は、無染色で生体分子の構造情報を得ることができる有用な観察手法であり、近年ではアルキンなどの微小タグと組み合わせることで、生細胞中の標的分子の特異的な可視化も可能となった。しかし既存のラマンタグは常に同じラマンシフト値・信号強度を示すため、ラベル化剤としての用途に留まっていた。そこで我々は、分子の吸収波長よりも 100–200 nm 長波長の光で励起する前期共鳴 (EPR) 条件下で、その検出感度が飛躍的に増大する現象を活用し、標的酵素との反応前は吸収波長が短いため信号が off だが、反応後は吸収波長が長波長化し EPR 条件を満たして信号が on になるプローブ (9CN-JCP プローブ) を昨年度の年会で報告した。本年度においては、9CN-JCP プローブの 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、アミノペプチダーゼやグリコシダーゼなど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 4 種類に拡張した。さらに、開発した 4 種類のラマンプローブを用いて、生きた細胞内におけるこれらの酵素活性を同時多重検出できること、また 2 種類の培養細胞における異なる酵素活性パターンを検出できることを示した¹⁾。

1) Fujioka, H.; Shou, J.; Kojima, R.; Urano, Y.; Ozeki, Y.; Kamiya, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (49), 20701-20707.