

## 凝集体形成を活用した細胞内滞留型ラマンプローブによる領域選択的酵素活性イメージング

(東大院薬<sup>1</sup>・東大院工<sup>2</sup>・東大院医<sup>3</sup>・東工大生命理工<sup>4</sup>・東工大国際先駆研究機構<sup>5</sup>)

○藤岡 礼任<sup>1</sup>・Spencer Spratt<sup>2</sup>・浦野 泰照<sup>1,3</sup>・小関泰之<sup>2</sup>・神谷 真子<sup>4,5</sup>

Selective imaging of enzyme activity using Raman probes with improved cellular retention by utilizing aggregate formation (*Graduate School of*<sup>1</sup>*Pharmaceutical Sciences,*<sup>2</sup>*Engineering and*<sup>3</sup>*Medicine, The University of Tokyo,*<sup>4</sup>*Department of Life Science and Technology,*<sup>5</sup>*Living Systems Meterialogy Research Group, International Research Frontiers Initiative, Tokyo Institute of Technology*) ○Hiroyoshi Fujioka<sup>1</sup>, Spencer John Spratt<sup>2</sup>, Yasuteru Urano<sup>1,3</sup>, Yasuyuki Ozeki<sup>2</sup> and Mako Kamiya<sup>4,5</sup>

In recent years, Raman microscopy has been attracted for its high multiplexability. At the 101st annual meeting, we reported activatable Raman probes whose Raman signals are activated with bathochromic shift induced by enzyme reaction and simultaneous detection of four enzyme activities in living cells. However, it was difficult to specifically detect the region expressing the target enzyme due to leakage of the hydrolysis products from the target cells after activation. To solve this problem, we focused on 9CN-rhodol scaffold which has high aggregation ability in aqueous solution and designed novel Raman probe based on aggregate formation after enzyme reaction. By using newly developed 9CN-rhodol-based Raman probes, we successfully detected three different enzyme activities simultaneously in living cells and detected target enzyme expressing region with high selectivity and high sensitivity in living *Drosophila* tissues. **Keywords :** *activatable; cellular retention; aggregation; enzyme activity; simultaneous detection*

ラマン顕微法は蛍光法と比べて高い多重検出能を有することで近年注目を集めている。我々はこれまでに酵素反応に伴う吸収波長変化を利用してラマン信号が活性化される **activatable** 型ラマンプローブの開発と、それらを用いた 4 種類の酵素活性のライブ多重検出を達成し、第 101 春季年会にて発表した。しかし、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、本研究ではプローブの細胞内滞留性を改善するために、水溶液中で高い凝集性を示す 9CN-rhodol 誘導体に着目して、酵素反応後に凝集体を形成することで細胞内滞留性が向上するプローブの設計を行った。さらに、開発したプローブを用いて生細胞中の 3 種類の異なる酵素活性を同時検出できること、ショウジョウバエ組織中の標的酵素発現領域のみを高選択的かつ高感度に検出できることを示した。

### 9CN-rhodol-based probe

