

# 29P1-am080

細胞内滞留性新規  $\beta$ -galactosidase 蛍光プローブの開発と応用

○神谷 真子<sup>1,2</sup>, 浦野 泰照<sup>1,3</sup>, 小林 久隆<sup>4</sup>, 長野 哲雄<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>東大院薬, <sup>2</sup>JST CREST, <sup>3</sup>JST PRESTO, <sup>4</sup>NIH NCI)

**【目的】**筆者らはこれまでに、当研究室で開発した新規フルオレセイン骨格 (TokyoGreen: TG) を用い分子内光誘起電子移動過程を最適化することで、レポーター酵素として汎用されている  $\beta$ -galactosidase に対する高感度蛍光プローブ TG- $\beta$ Gal の開発に成功した。しかし TG- $\beta$ Gal を用いた場合、酵素との反応後に生成する蛍光性生成物 (2-Me-4-OMe TG) の細胞内滞留性が十分でない為、その適用しうるアプリケーションに制限があるというのが現状である。そこで今回、TG- $\beta$ Gal に細胞内 esterase 感受性の AM (Acetoxymethyl) 基で保護したカルボキシル基を組み込むことで、細胞内滞留性を高めた新たなプローブを設計・開発することを目的とした。

**【結果及び考察】**具体的には、筆者らがこれまでに構築したプローブ設計法に則り量子化学計算と物理化学的実験を行った結果、ブチル基を介せば TG- $\beta$ Gal の蛍光特性を損なわずに、AM 基で保護したカルボキシル基を組み込むことができることが明らかになった。そこで、ブチル基をリンカーとして用いたプローブ AM-TG- $\beta$ Gal を新たに設計・開発した。開発した AM-TG- $\beta$ Gal は、 $\beta$ -galactosidase と反応することで TG- $\beta$ Gal と同程度の大きな蛍光上昇を示し、さらに TG- $\beta$ Gal よりも優れた細胞内滞留性を示すことが明らかになった。また、腹腔内に癌細胞を播種した癌モデルマウスを用いて検討を行った結果、予め  $\beta$ -galactosidase を癌細胞に *in vivo* ターゲティングした後 AM-TG- $\beta$ Gal を投与することにより、腹腔内の癌細胞を蛍光可視化できることが明らかになった。以上、細胞内滞留性新規  $\beta$ -galactosidase 蛍光プローブを開発し、さらに癌細胞でのみ蛍光が増強されるような新規癌イメージング法を確立することに成功した。