

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

#### 細胞内滞留性 $\beta$ -galactosidase 活性検出赤色蛍光プローブの開発と応用

氏名 伊藤 央樹

$\beta$ -galactosidase はその高い酵素活性や哺乳類動物細胞における内在性発現の低さから、green fluorescent protein (GFP)と並ぶ代表的なレポータータンパク質として幅広い生命科学分野で汎用されている。代表的な $\beta$ -galactosidase 活性検出法としては、吸光法・蛍光法に基づく測定法があるが、中でも酵素との反応前後で蛍光特性が大きく変化する蛍光プローブを用いる蛍光法では、生きた細胞や組織における $\beta$ -galactosidase 活性を高感度に検出することが可能である<sup>1</sup>。しかしながら、従来までの $\beta$ -galactosidase 活性検出蛍光プローブは、その細胞膜透過性の低さや酵素反応生成物の細胞内滞留性の低さから、 $\beta$ -galactosidase 発現細胞を 1 細胞レベルで特異的に蛍光標識できないという課題があった<sup>2</sup>。当研究室では近年この課題を克服すべく、酵素反応に続き反応性の高いキノンメチド活性中間体を形成するよう分子設計を施すことで、蛍光性および細胞内滞留性を同時に獲得する新たなプローブ SPiDER- $\beta$ Gal を開発した<sup>3</sup>。しかしながら本プローブは、ロドールを母核とする黄色蛍光プローブであるため、GFP との共染色が難しくその応用範囲が限定される他、 $\beta$ -galactosidase 活性検出以外の機能を付与することは難しかった。そこで本研究では、複数の細胞種を 1 細胞レベルで可視化し、その機能を解析可能な新たなツールの開発を目指し、GFP との共染色が可能な赤色領域 (> 600 nm) で機能する新たな $\beta$ -galactosidase 活性検出蛍光プローブの開発を目指し研究を行った。

#### 【参考文献】

- (1) Jiang, T. *et al.*, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, **2008**, 25, 41-76.
- (2) Kamiya, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 12960–12963.
- (3) 国立大学法人 東京大学. 酵素特異的な細胞内滞留性蛍光化合物. WO2015174460 A1. 2015-05-13.