



UEC Tokyo

Unique & Exciting Campus
UEC Tokyo



ホタル生物発光をモデルとした 人工発光系の創製

科学に学び技術を創る！！

電気通信大学大学院 情報理工学研究科
先進理工学専攻 助教
牧 昌次郎

街路樹を自在かつ多彩に発
環境にも優しい「未来の

**生物機能のモデル化だから
実現したい未来があります！**



2. 太古の光

電気が発明される以前

火を使うずっと前からあった光

太陽、月、星

そして生物が燈す光

それは

生物発光

人類が最初に目にした生命体で作った光を

科学技術で創りたい！

マルチカラー&高輝度発光システムとして

ホタル生物発光系をモデル化した

マルチカラー

人工発光系の創成

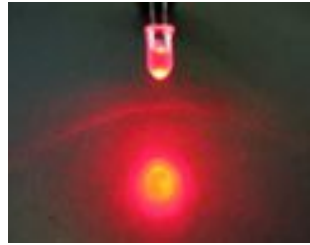
自由自在に、いろんな場所で！

いろんな色で、もっと明るく！



鳥に憧れて、飛行機やロケットも
作れたんだからきっとできるはず！

3. 発光効率比較例



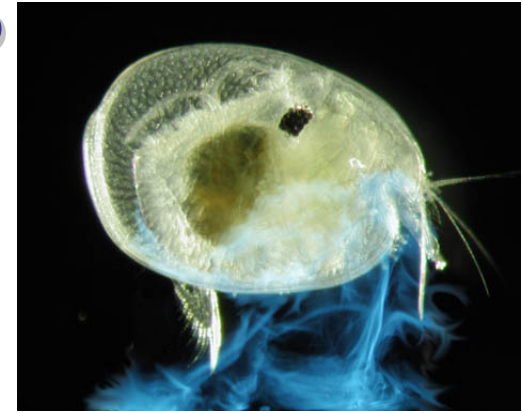
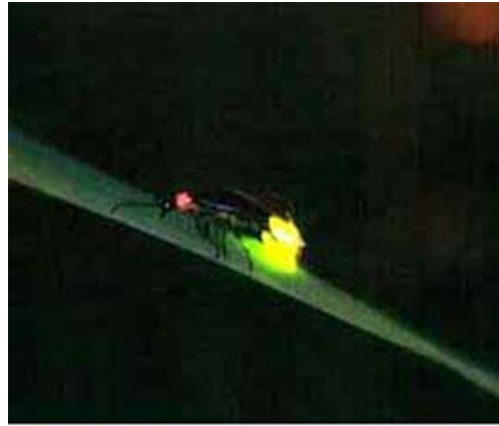
70~80%
ホタル

(アメリカ産ホタル *Photinus Pyralis*)

30%

発光ダイオード
($\text{Al}_{0.28}\text{Ga}_{0.72}\text{As}$ (赤))

「光デバイス」, オーム社 (2001) より.



ウミホタル
(日本産 *Vargula*)



7%

有機EL素子

「有機EL素子とその工業化最前線」
宮田清蔵 監修, エヌ・ティー・エス (1998)
より.

88% (41%)

10~20%



電球・蛍光
(消費電力比)

~0.04%



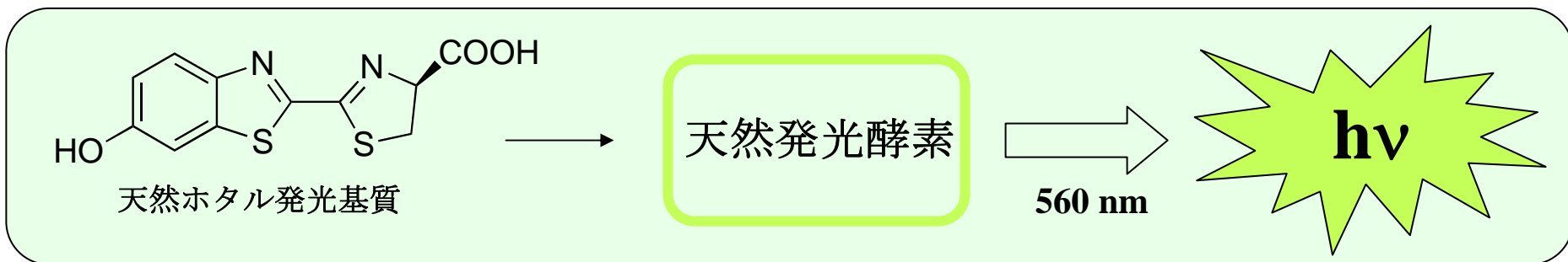
ケミカルライト

4. 背景とニーズ

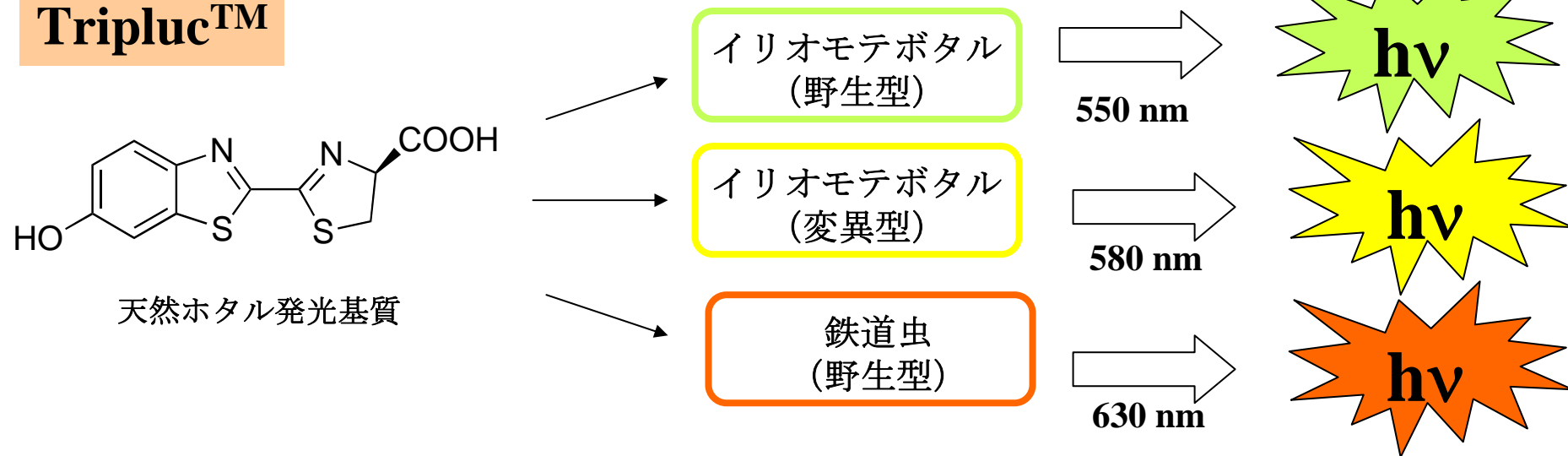
ホタルの発光効率には地上最高といわれ、ミクロの学術研究レベルから排水検査などのマクロ使用まで、様々なシーンで利用されている。

また可視化対象の拡大や測定機器の急成長により、「**多色発光**」へのニーズが急速に高まると同時に、種々の課題も指摘されている。

- ➡ 1. 高感度な発光基質
- ➡ 2. 発光基質の低価格化
- ➡ 3. 多彩な発光色の提供
- ➡ 4. 複雑な知財権からの解放



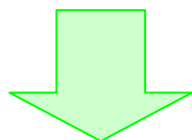
Tripluc™



5. なぜ人工発光系か？

天然基質と酵素を利用する限り
発光色は黄緑色 (560nm) である。

指標なきランダムトライ&エラー



未解明な発光機構

長年におわたる変異酵素による発光色変換の試み

フロー用途
の多様化

多色発光のニーズ

測定機器等
の技術進展

発光材料
としての利用



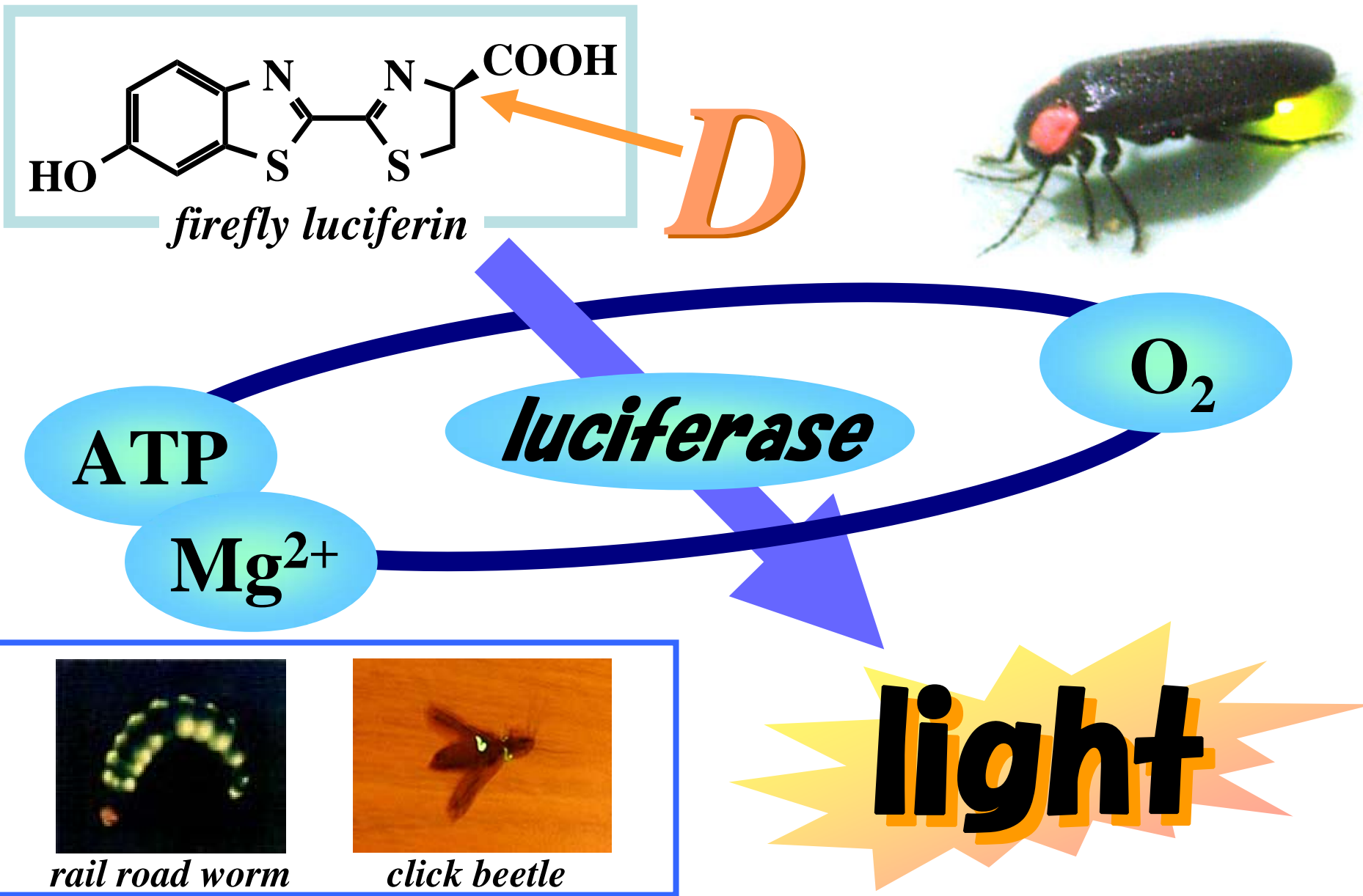
カラーテレビへ！
白黒テレビから



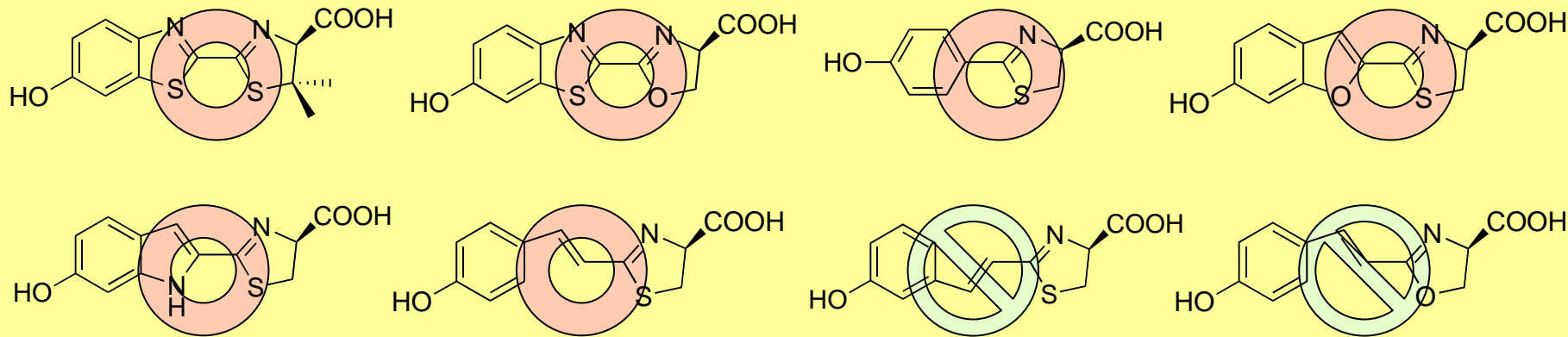
可視化対象
の拡大

発光体となる発光基質を直接的に変換すれば
ドラスティックな発光色変換が可能なのではないか！

6. Luciferin-Luciferase Reaction



7. 基質アナログの発光活性と構造活性相関



30種類以上

特開2006-219381

位置により
活性に影響

発光活性に
大きく影響

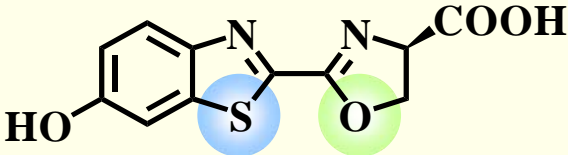
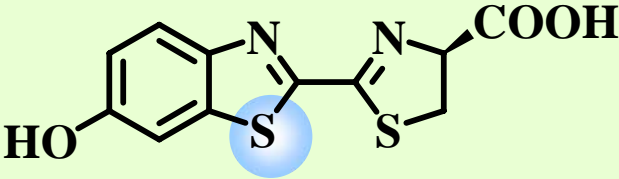
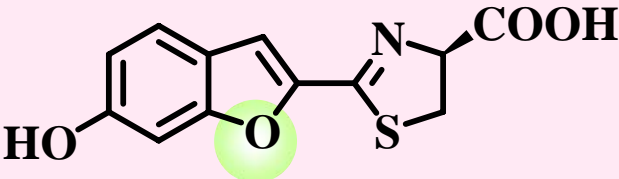
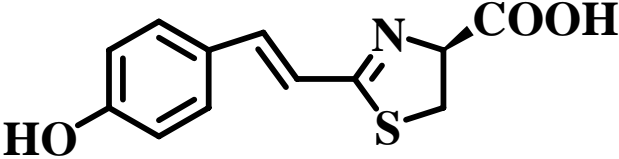
ルシフェラーゼの認識に関与？

修飾可能部位

ルシフェラーゼの
認識に影響？

どの程度変換・簡素化が可能か

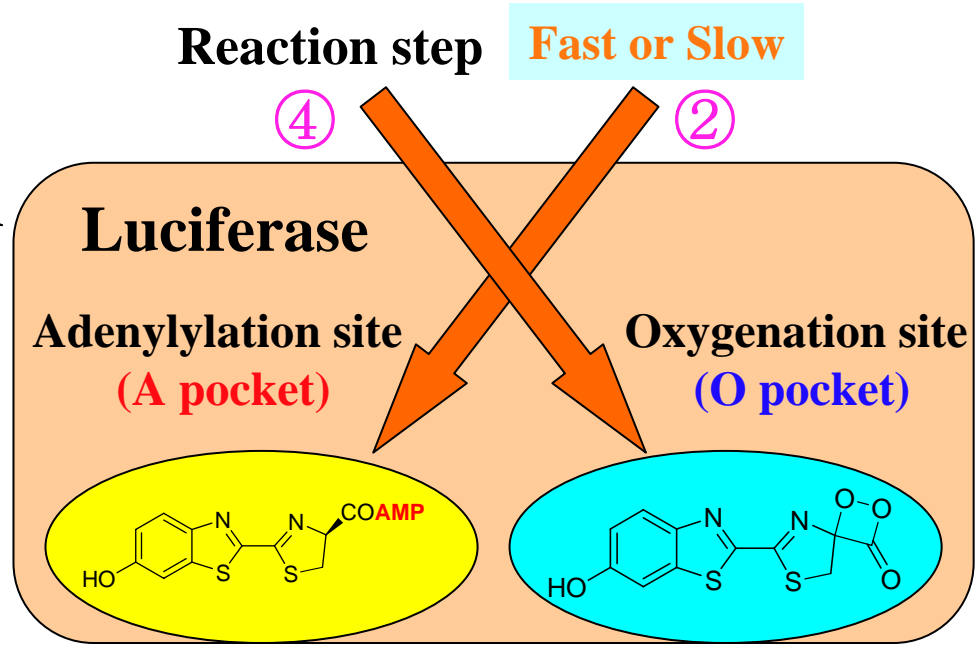
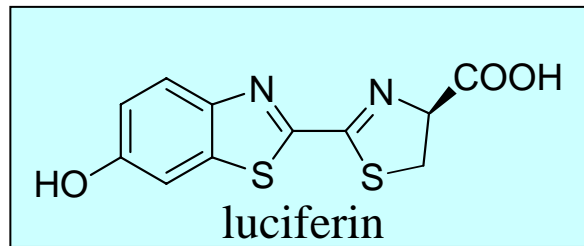
8. 基質データ比較

	<i>Bioluminescent wavelength</i>	<i>Bioluminescent activity</i>	<i>Chemiluminescent activity (Methyl ester)</i>
	582 nm	1 / 5000	30
	560 nm	1	1
	530 nm	1 / 50	0.5
	520 nm	1 / 850	0.2

人為的補助による発光効率の向上が必要！

9. 発光酵素の機能解析

A pocket = O pocket ?
A pocket ≠ O pocket ?



Recognition step Favorable or Unfavorable Recognition step

ホタル発光反応は1段階反応のように観測される！

2つの機能のどちらかが『律速段階』である

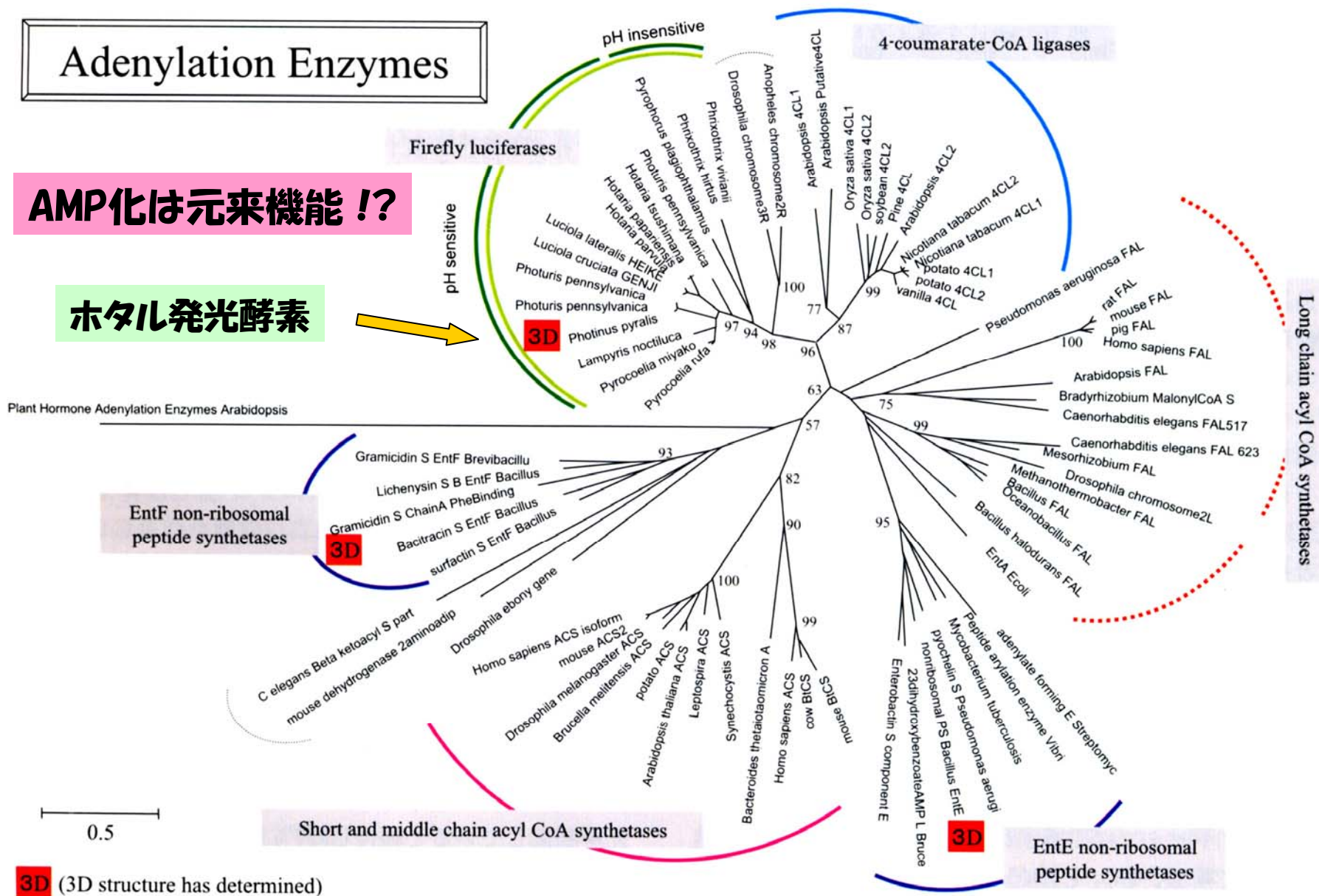
10. アシルアデニレート合成酵素スーパーファミリー

Y. Ohmiya, *Seikagaku*, 2004, 76, 5-15.

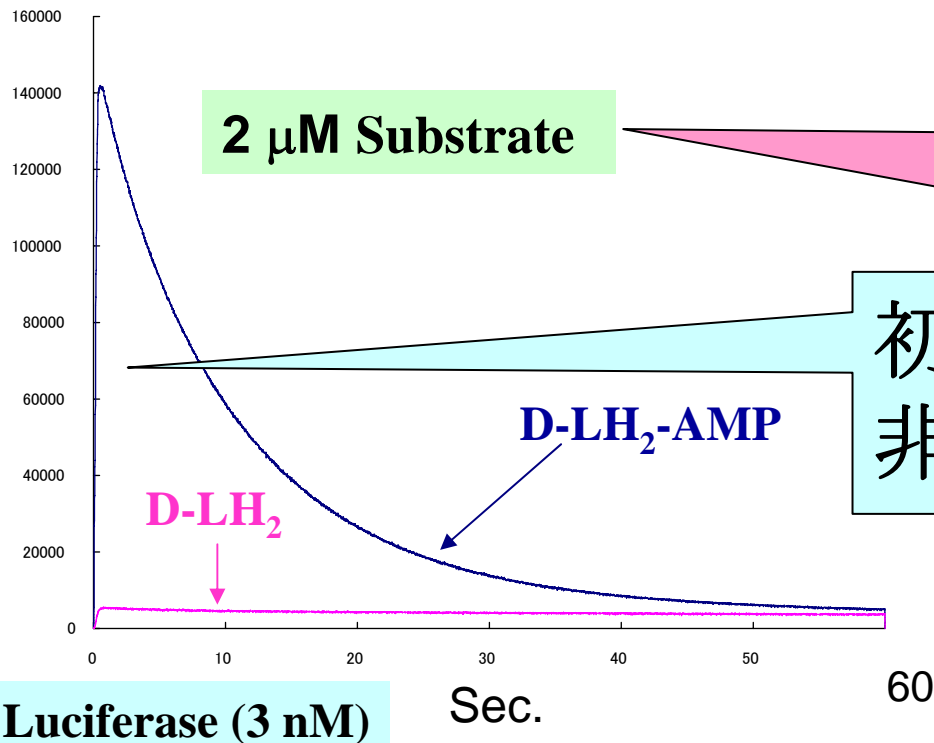
Adenylation Enzymes

AMP化は元来機能!?

ホタル発光酵素



11. D-LH₂とD-LH₂-AMPの比発光活性



同濃度における
顕著な発光活性の増強

初期の発光強度は約30倍
非常に早い立ち上がり！

発光波長(λ_{\max})は同じ

律速段階はAMP化段階(A pocket)

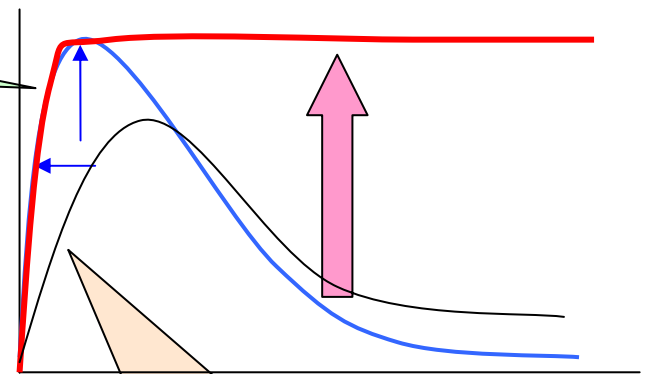
特願2006-086175, WO2007/116687

12. 標識材料化への課題

ホタル生物発光系は
フラッシュ発光する
(右図中；黒線)

計測機器に適する標識材料の条件

1. 早い立ち上がり
2. 定常化発光



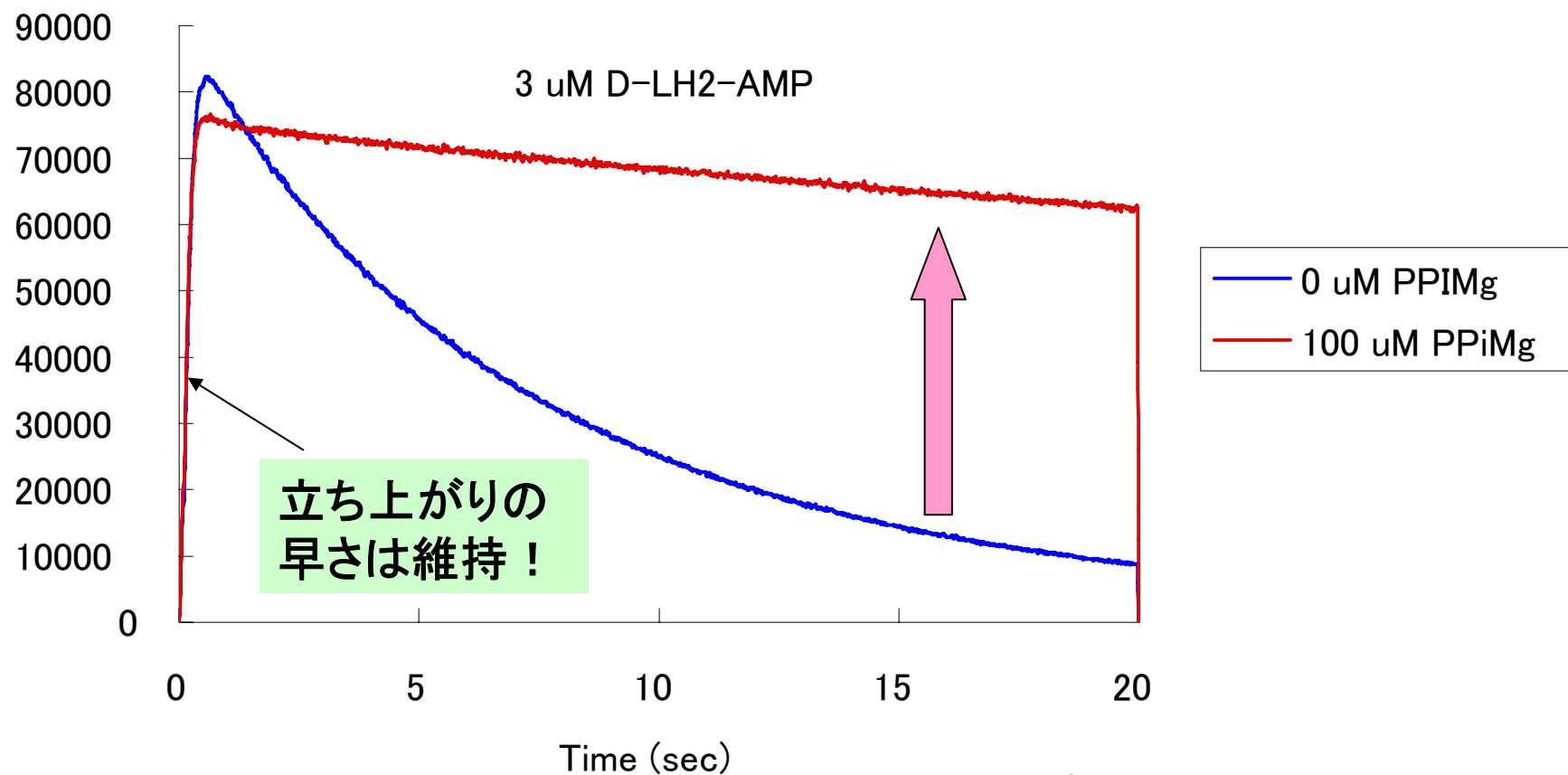
計測機器に使用する
標識材料としては不適

フラッシュ発光をフラット発光にする

フラッシュ発光の原因は発光酵素の失活

発光酵素のターンオーバー向上技術の開発が必要

13. D-LH₂-AMPのPPi添加による発光の定常化

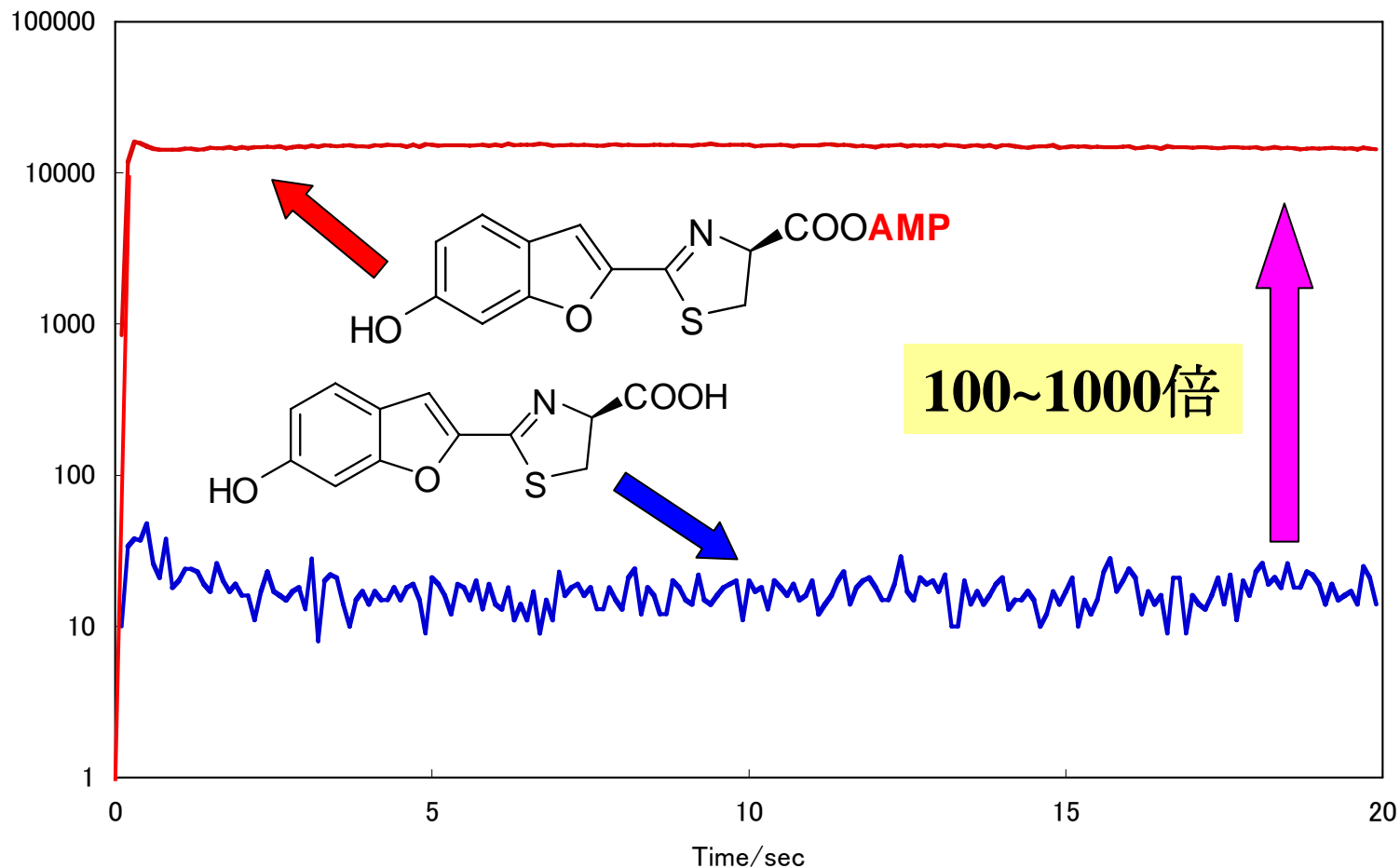


発光活性は5倍程度向上!

特願2006-086175,
WO2007/116687

「定常発光化技術」とは、
発光酵素の「ターンオーバー向上技術」である!

14. アナログに対する発光活性の向上



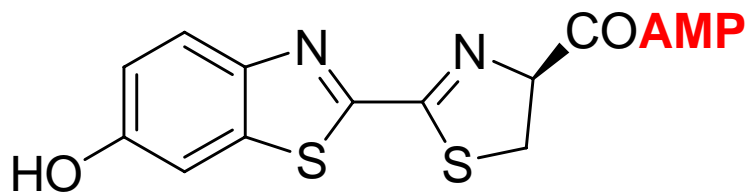
アナログにも発光活性向上技術は効果的

15. Effect of Emission Enhancing Technology (EET)

Totally **~150 fold**

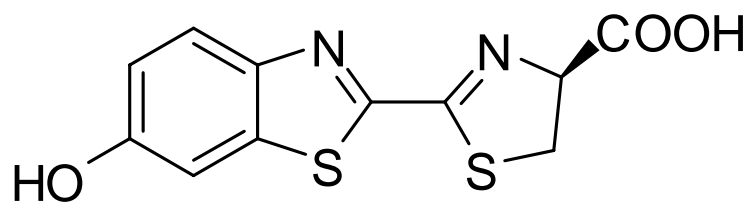
PP

5~10 fold

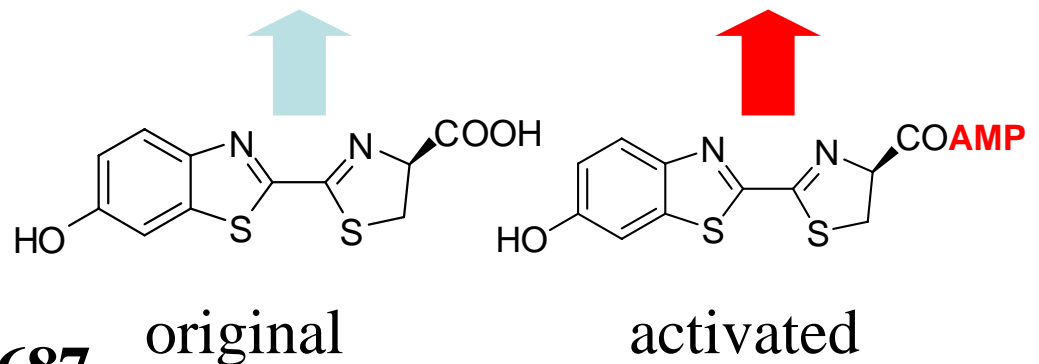
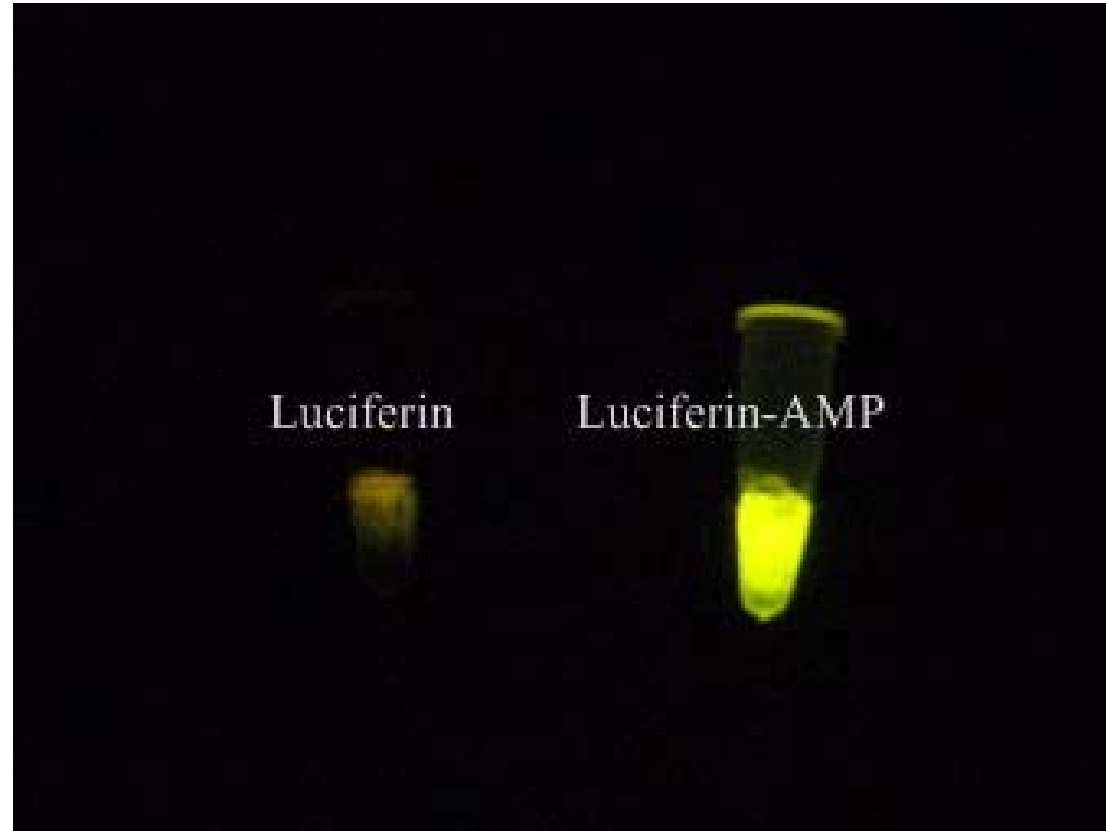


AM

20~30 fold



WO2007/116687

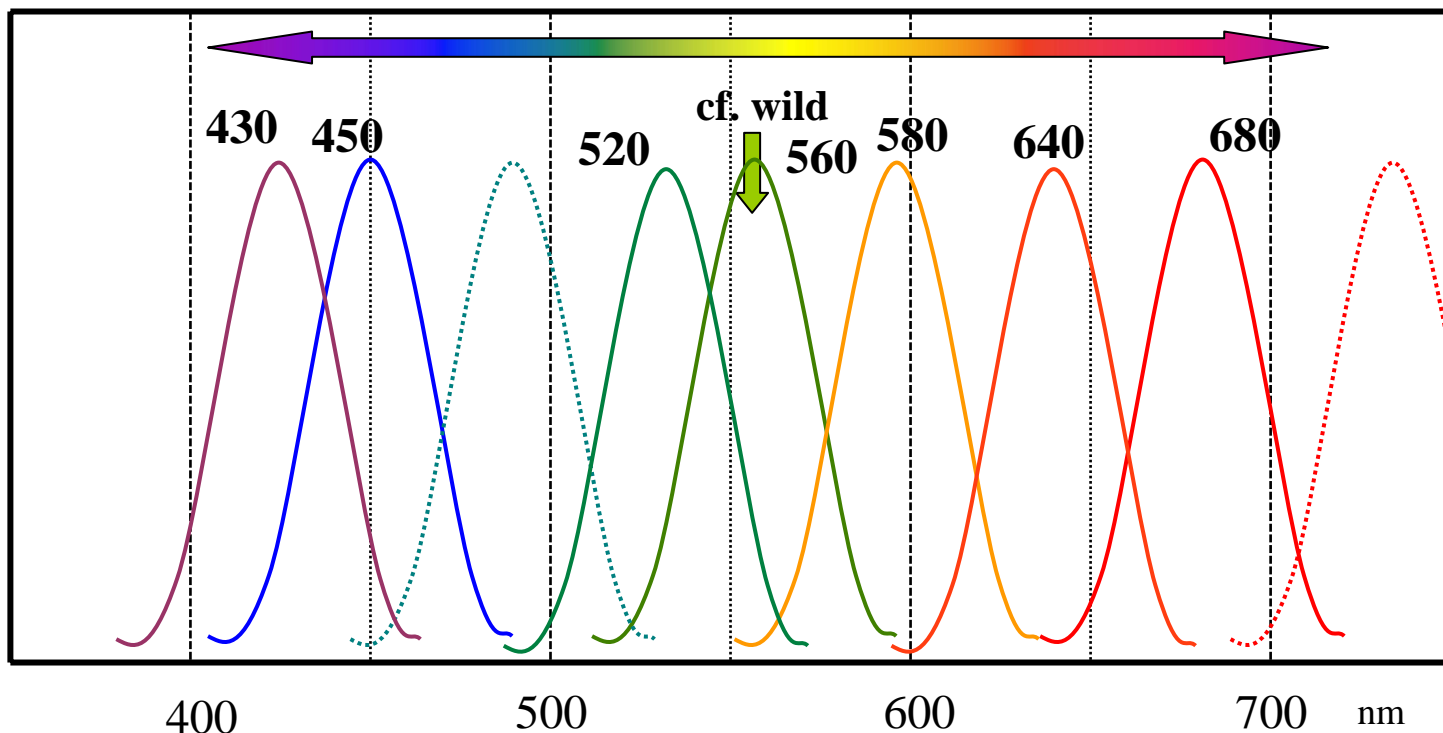


16. 基質アナログによる発光波長

ほぼ

全て基質アナログ

可視光領域を網羅する多彩な発光波長を実現しました！



波長変換域、基質アナログとも世界初！

17. 課題と実用化

1. 新しい材料：発光プローブの創製
2. 赤色発光材料($\lambda_{\max} > 700 \text{ nm}$)の実現
3. 発光波長改変技術の指標化と実証

基質アナログと変異酵素などによる多色発光系の構築

新しい発光材料の創成と利用、そして分野の開拓

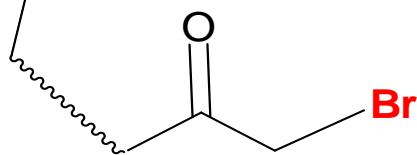
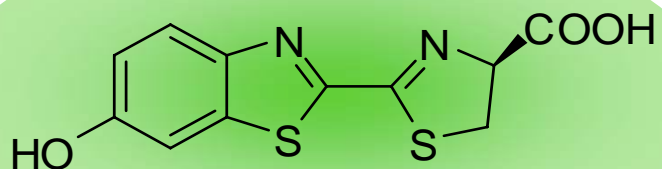
ホタル生物発光系をモデル化することで
新しい世界への扉を開きたい！

新しい扉を開くには、新しい鍵が必要です

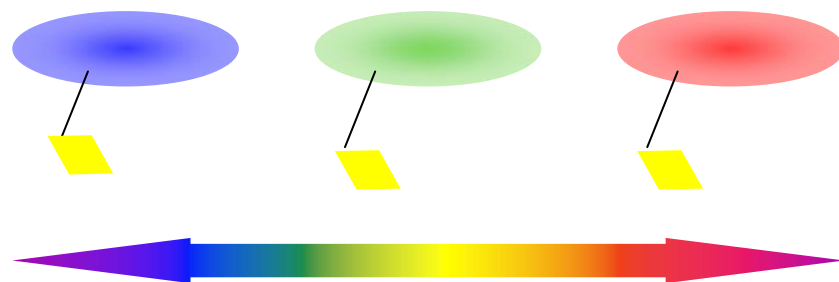
ツール

18. 発光プローブの利用例

発光標識材料化（発光プローブ化）



基質にタグをつける!?



核酸、アミノ酸、ペプチド、タンパク他

発光材料化（酸素センサー）

発光シールで安全管理!?



パックを開封する!



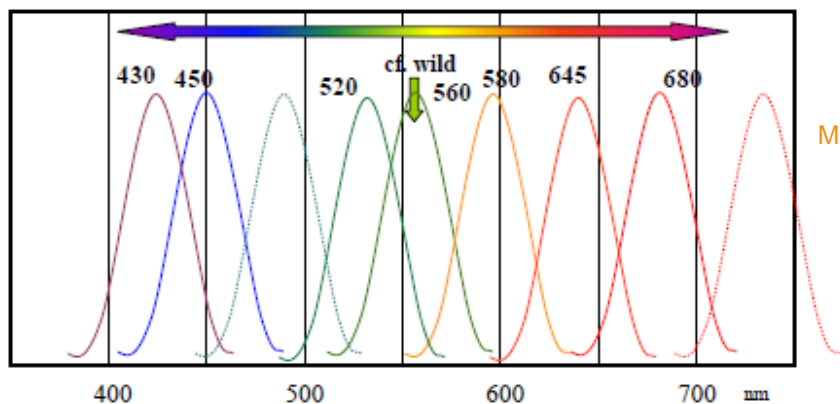
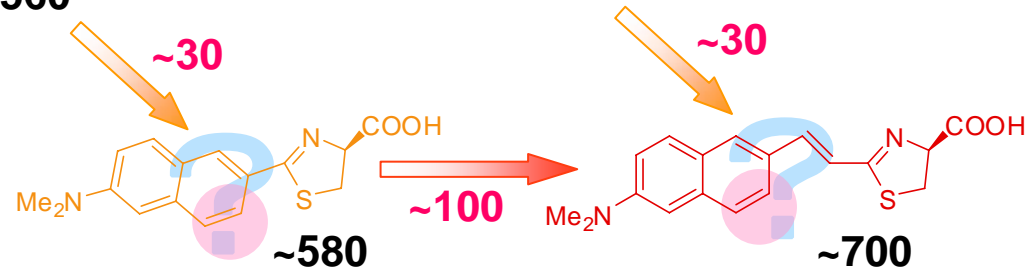
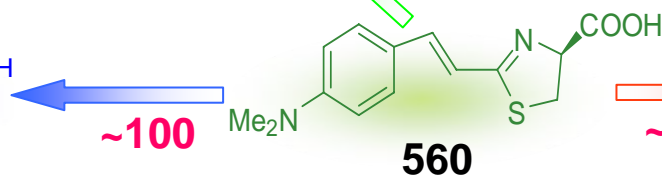
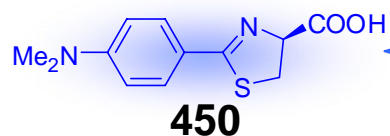
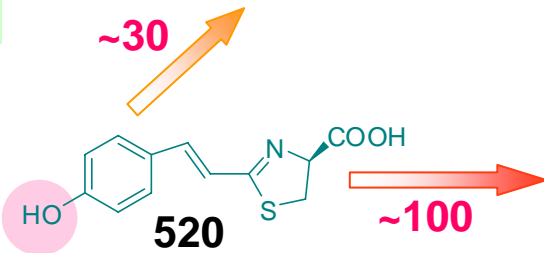
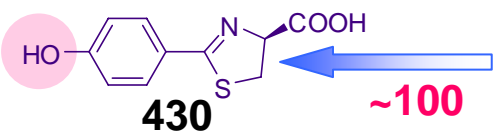
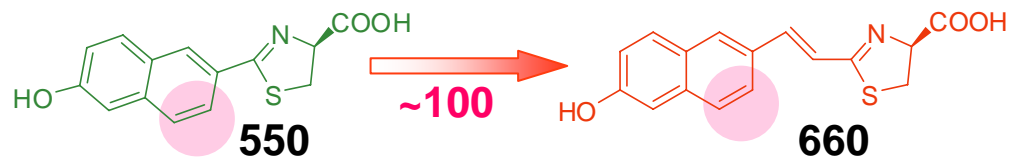
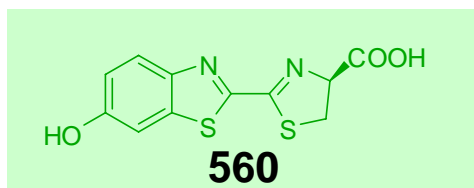
酸素と反応



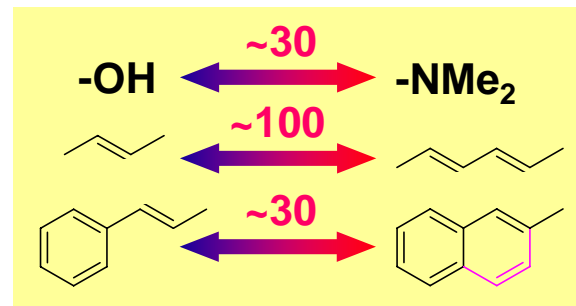
ジェル等に酵素と基質等を配合し、真空パックや不活性ガスを封入したり、表面をシールして酸素を遮断する。

パック内が無酸素状態であったことを発光して知らせる。

19. 多色基質デザインと指標

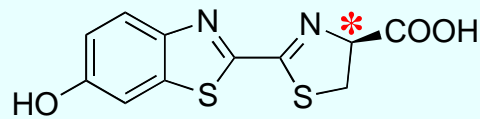


特願2009-064595



20. 人工発光系の多彩かつ多様なニーズへの対応

キラル拘束型単色発光



ホタル生物発光

ホタル
発光酵素

ca. 560 nm



1 基質 対 1 酵素系

キラルフリー多色発光



基質アナログ A

基質アナログ Z

変異型
発光酵素 A

変異型
発光酵素 Z



既存系
cf. Tripluc™

多基質 対 1 酵素系

多基質対多酵素系

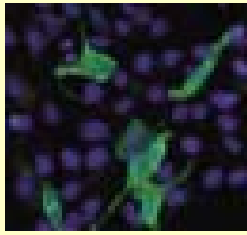
1 基質 対 多酵素系

たすき掛けなら

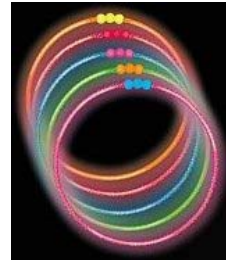
人工発光系ならば

多彩な発光色の提供と多様なニーズへの対応が可能です！

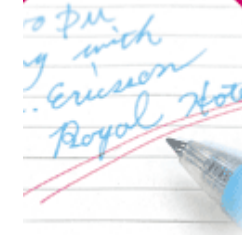




イメージング用プローブ



バイオライト
(ケミカルライトの代替品)



発光ペン



ボディペイント



生体内患部
深部モニタ用
赤色プローブ

医療衛生用検査診断薬

ホビー・レジャー



非破壊検査
内部クラック

マルチカラー発光が創る
新技術・新商品

屋内外用
ランタン
(無電源照明)



安全管理・検定標識

インテリア・ヒーリング

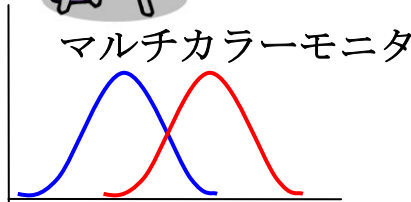


パックを開けると光る

★安心・安全



現象解明・解析
不顕在事象の
可視化・数値化

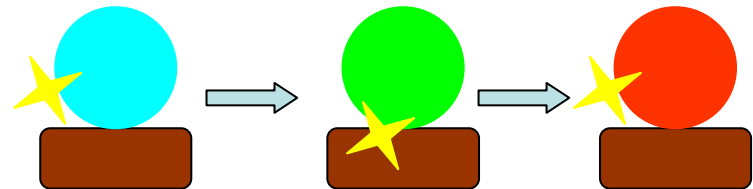


マルチカラーモニタ



デザイン照明
ヒーリング用光源

発光タイマー



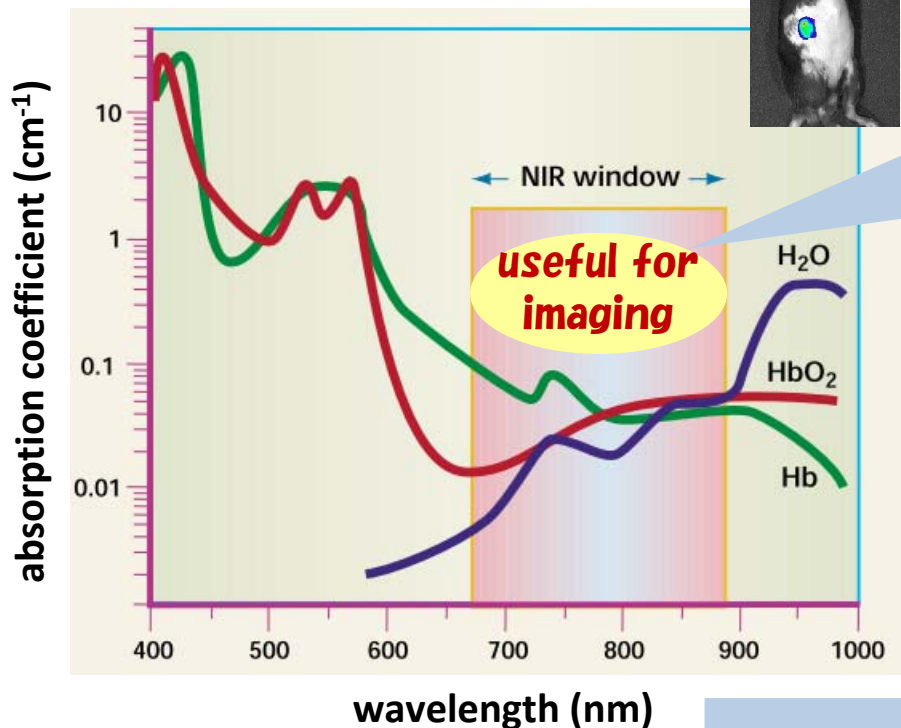
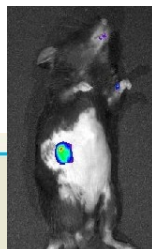
計測・測定標識剤

SOSマーカー
緊急信号



22. 赤色発光の実用性

・ *NIR window* (= 生体の窓)

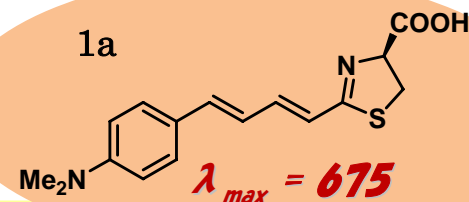


650 ~ 900 nm
深部の分子イメージングが可能

アジア最大のバイオイベント
第9回 **国際バイオEXPO**
併催 バイオテクノロジー国際会議

蛍光標識材料 のものが主流
励起光が必要

自発発光材料の例は極めて少ない



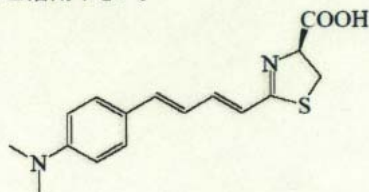
商品として世に送り出すことで
本学発の最先端技術として認知してもらおう

23. アカルミネ

Biochemical WAKO INFORMATION
近赤外発光ルシフェリンアナログ
アカルミネ

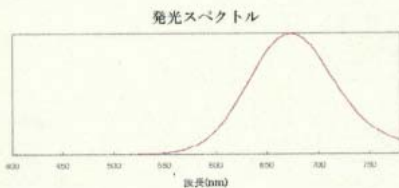
本品は発光スペクトル670~680nmにもつルシフェリンアナログです。670~680nm付近では水、ヘモグロビンの吸収を受けにくい生体深部の *in vivo* イメージングに適していると考えられています。赤色発光は酵素によるアプローチが主流ですが、本品は基質によるアプローチであり独自性の高い製品です。是非ご活用下さい。

- 外観：黒褐色
- 本品は水では溶解しにくいので、DMSO に溶解下さい。



C₁₆H₁₈N₂O₂S = 302.39

特長



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-23691	アカルミネ	生化学用	1mg	¥20,000
013-23693			5mg	¥80,000

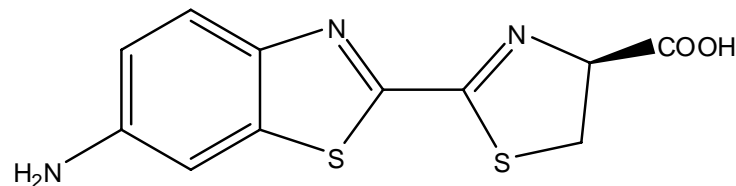
記載希望納入価格は本体価格であり、消費税などが含まれておりません。

和光純薬工業株式会社

本社: T 540-5605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: (06) 6203-1788 (試薬学術部)
 支店: 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 TEL: (03) 3270-8243 (試薬学術部)
 営業所: 九州(092)632-1005 中国(082)285-6381 東海(052)772-0788
 浜波(029)858-2278 東北(022)222-3072 北海道(011)271-0285
 URL: <http://www.wako-chem.co.jp> E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp
 フリーダイヤル: 0120-052-099 フリーファックス: 0120-052-806

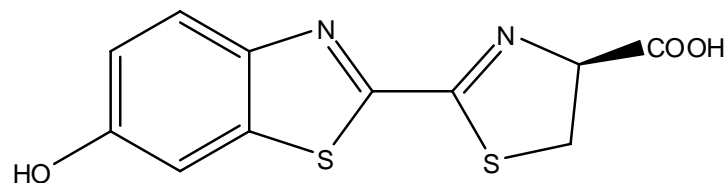
Wako Overseas Offices:
 •Wako Chemicals USA, Inc. (Richmond, VA) Tel: +1-804-714-1920 <http://www.wakousa.com>
 •Sales Offices: Los Angeles / CA Tel: +1-949-479-1700, Boston / MA Tel: +1-617-354-6772
 •Wako Chemicals GmbH (European Office) Tel: +49-2131-311-0 <http://www.wako-chemicals.de>

11700 開



アミノルシフェリ

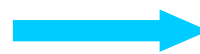
610nm, ¥ 6,6000/1mg



ホタルルシフェリ










560nm, ¥ 10, 500/5mg
 ¥64,000/50mg

3月発売予定



9月発売予定

24. 課題と展望

1. さらなる長波長化技術の開発  近日出願予定
2. 国際展開の必要性  UC berkeleyの研究者とMTA契約済
3. 異分野融合での技術の開発の推進   検出機器系企業との提携
4. 総合的社会貢献の模索  事業化と子供実験講座
5. 中・大型研究費(数千万/数年規模)の獲得  **Not Yet**
6. がんの転移の可視化  **Not Yet**
7. 再生医療・移植技術開発への応用  **Not Yet**
8. 発光材料としての実用化  **Not Yet**

 **ホタル発光技術は人への直接応用はできません**

25. 関連特許一覧

1. WO2007/116687

「複素環化合物及び発光方法」

← **輝度向上技術**

発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹、平野 誉

出願人：国立大学法人 電気通信大学 (PCT/JP2007/056227)

出願日：2006年 3月27日

RGB発光技術

2. WO2009/096197,US2011/033878A1 「ルシフェラーゼの発光基質」

発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹

出願人：国立大学法人 電気通信大学 (PCT/JP2009/000376)

出願日：2009年 2月 2日

← **発光フローブ技術**

3. 特開 2010-180191 「ルシフェラーゼの発光基質」

発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹

出願人：国立大学法人 電気通信大学

出願日：2009年 2月 9日

← **波長変換技術**

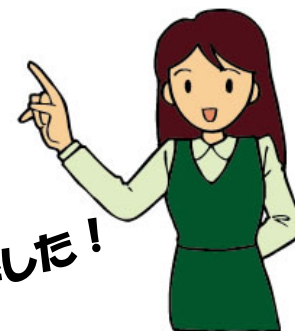
4. WO2010/106896 「波長が制御されたルシフェラーゼの 発光基質および製造方法」

発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹。

出願人：国立大学法人 電気通信大学

出願日：2009年 3月17日

複合利用も実現しました!



発光映像



市販のデジカメで
撮影しています！

