

## 世界を駆ける蛍ラット、見えないもの（NO）を見せることに貢献！

生物発光イメージング法は、ルシフェリンと呼ばれる発光基質がルシフェラーゼと呼ばれる酵素と出会うことで自ら発する光を発します。一方、蛍光イメージング法は、生体組織に目に見えない低波長の励起光を当て、それが跳ね返ってくる長い波長の可視光として観察されます。シャープな光を出すところやエネルギーを必要としないなどの利点がありますが、組織内で吸収・散乱を生じたり、自家蛍光といったにおいてシグナルの感度を下げる要素があります。

いずれも手法も動物個体内においてシグナル検出を可能にする手法として、生命科学研究において汎用されていますが、生物発光イメージングには、さらに、ある特定の生理活性分子が存在する時のみ、その発光が ON になる生物発光プローブと呼ばれる分子を用いれば、その生理活性分子が生体内において、どのような場所で、どのようなタイミングで放出されるのかをイメージングによって詳細に解析することが可能です。しかし、これまで生物発光プローブは、発光基質を何らかの保護基でマスクしておき、特定の生理活性分子が反応したときに、この保護基がはずれることで発光性を回復するというデザインによってしか開発できなかったため、検出できる生理活性分子の種類には、大きな制限がありました。

東京大学大学院薬学系研究科、同医学系研究科浦野泰照教授らは、アミノルシフェリンと呼ばれるホタルの発光基質の類縁体に、基質が発光するために必要な基質内の電子の遷移を制御可能な化学スイッチを導入することで、生物発光基質の ON/OFF を論理的にコントロールすることができることを初めて見出しました。さらに慶應大学医学部臓器再生医学講座の小林英司教授が開発した全身にルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだ蛍ラットを用いて、重要な生理活性分子の一つである一酸化窒素の生体内イメージングに応用することに成功しました。この成果は、2015年3月11日付けの Journal of the American Chemical Society」(論文タイトル New class of bioluminogenic probe based on bioluminescent enzyme-induced electron transfer: BioLeT)として世界に発表されました。

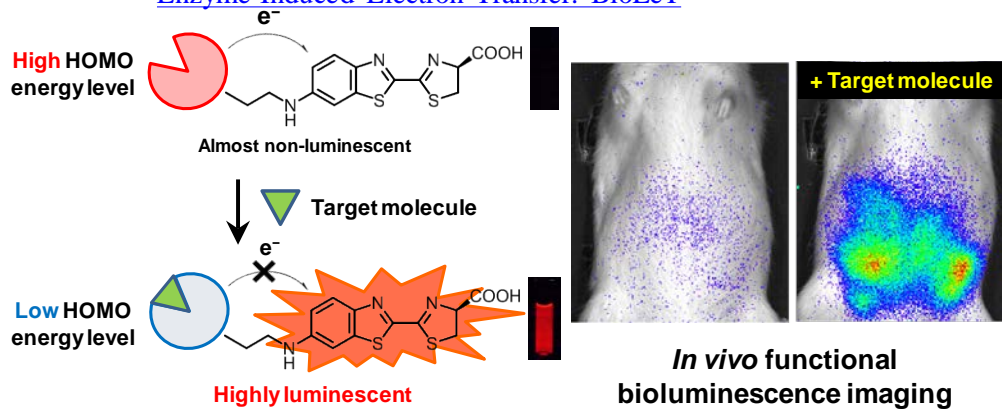
発光分子や蛍光分子は、分子内の電子が励起状態と呼ばれる活性化状態から、基底状態と呼ばれる非活性化状態に戻るときに光子を放出しますが、同研究グループは、これまでに、蛍光分子の ON/OFF(励起状態から光子を放出するか否か)を、蛍光分子近傍に結合した電子供与体から、励起状態にある発光団(電子受容体)への電子の移動によって論理的にコントロールできることを見出していました(注5)。生物発光基質も、蛍光分子と同様の励起状態を取るため、発光団の近傍に精密にデザインした化学スイッチを結合することで、このスイッチ部位からの電子移動によって、発光の ON/OFF をコントロールできるのではないかと考え研究を始めました。

同研究グループはまず、異なる電子供与能を持つ分子を発光団の近傍に結合することで、その電子供与能と基質の発光強度の相関を調べました。すると、基質の発光強度と、結合した分子の電子供与能の間には良い相関が見られ、高い電子供与能を持つ分子を結合した

場合には、この分子から発光団への電子の移動によって、発光を OFF の状態に抑えることができることを初めて見出しました。研究グループはこの新しく発見した現象を Bioluminescent enzyme-induced electron transfer (BioLeT) と名づけました。

この新しい生物発光の ON/OFF の制御原理は、これまで開発が困難であった生物発光プローブの開発を可能にしました。従来の生物発光プローブは一酸化窒素など、発光基質をマスクした保護基を外す活性がない生理活性分子を検出することは不可能でしたが、同研究グループは、一酸化窒素が存在しない時には化学スイッチが発光を OFF にできるだけの電子供与能を持つ一方で、一酸化窒素が化学スイッチと反応すると、電子供与能力が著しく減少し、発光が ON になるよう精密にプローブを設計することで、一酸化窒素を検出する生物発光プローブ Diaminophenylpropyl-aminoluciferin (DAL) を初めて開発しました。さらに、全身にルシフェラーゼを発現する“ホタルラット”内でこれを用いることで、これまで困難であった生きた動物個体内での高感度な一酸化窒素の検出に成功しました。

#### [New Class of Bioluminogenic Probe Based on Bioluminescent Enzyme-Induced Electron Transfer: BioLeT](#)



(Takakura H, et al. *J Am Chem Soc.* 2015)

上記の生物発光の ON/OFF 制御原理は、様々な生理活性分子の検出原理へと応用できると考えられることから、動物個体内で様々な生理活性分子を生きたままの状態を観察することが可能になり、生命現象の解明に役立つことが期待されます。