

【基盤研究(S)】

理工系(化学)



研究課題名 革新的高輝度近赤外発光プローブの創製と 生体内癌イメージングへの応用

慶應義塾大学・理工学部・教授

すずき こうじ
鈴木 孝治

研究分野: 分析化学

キーワード: 分子イメージング、化学発光、生物発光、タンパク質プローブ、融合型発光分子プローブ

【研究の背景・目的】

分子プローブによる細胞・生体イメージングは、次世代の医療や創薬において主要な役割を果たすことが期待されている。特に生体内の微小癌イメージングにおいては、既存の分析ツールでは、実現困難な高性能・高機能を有するツール開発が急務である。革新的な分子プローブを早期に開発し、生体イメージングにいち早く応用するために、特長ある研究者を結集し、効果的かつ迅速に開発研究を進める必要がある。このため、本研究では、合成小分子プローブ開発に強い研究グループとタンパク質プローブ開発に強い研究グループとの学・学協力で、生体イメージングで標準として使用されるような汎用性の高い発光分子プローブを開発する共同研究を行う。

現在の分子イメージングは、蛍光検出の研究開発が主流であるが、蛍光プローブが直面する自家蛍光等の問題に無縁であり、より高感度を実現できる発光プローブが期待されている。また、生体深部からの情報取得には組織透過性の高い近赤外(NIR window: 650~900 nm)検出が有利である。これらを勘案し、本研究では、合成小分子とタンパク質分子を機能的に用いる“融合型分子プローブ”の概念に基づいて、高輝度近赤外発光分子プローブ等の開発研究を行い、癌イメージングに役立てる。

【研究の方法】

基質分子であるルシフェリンの基本骨格から、発光特性(最大発光波長と輝度)に与える要因(分子構造と発光特性の相関)を調べ、発光波長の長波長化および高輝度化がどのような分子構造にしたらできるのかを、種々の誘導体を合成することから詳しく調べる。分子骨格に電子ドナーとアクセプターを最適な位置で連結することにより、ICT(分子内電荷移動)により長波長するアプローチに加えて、RET(共鳴エネルギー移動)などを利用して長波長化と高輝度を達成する発光基質分子を合成する。RETを利用すれば、ストークスシフトを大きくできる利点もあるため、励起波長と発光波長を変化させるのに役立つとともに、内部消光を軽減させるメリットもあるため、実用応用の際に使い易い利点がある。

一方、酵素ルシフェラーゼの改変では、天然ルシフェラーゼの基質結合部位近傍アミノ酸にさまざまな変異を導入することにより、ルシフェラーゼを高輝度化できることを見いだしている。本研究では、ルシフェラーゼへの変異導入方法と変異体の評価系を大幅に改良してルシフェラーゼを飛躍的に分

子進化させ、著しく輝度の高い変異体を効率よく単離する技術を確認する。具体的には、ルシフェラーゼの基質結合部位近傍のアミノ酸残基(20個程度)にランダムにアミノ酸変異を導入し、これにより生成した大量のルシフェラーゼ変異体を、それぞれ大腸菌に発現させ、その大腸菌コロニーをCCDカメラでハイスループットスクリーニングする。この実験系を最適化して確立することで、著しく輝度が向上した変異体を効率よく取得する方法および条件を詳しく調べ、最適な酵素を作製する。

【期待される成果と意義】

高輝度近赤外発光分子プローブが作製できると、ラベル化剤として微量物質の検出に役立つだけでなく、生体の深部からの発光イメージングが実現する。このことは、癌研究や脳研究を加速することに寄与する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- “A Novel Luciferin-Based Bright Chemiluminescent Probe for the Detection of Reactive Oxygen Species”, M. Sekiya, K. Umezawa, A. Sato, D. Citterio, K. Suzuki, *Chemical Communications*, 21, 3047-3049 (2009).
- “Bright, Color-Tunable Fluorescent Dyes in the Vis/NIR Region: Establishment of New “Tailor-Made” Multicolor Fluorophores Based on Borondipyrromethene”, K. Umezawa, A. Matsui, Y. Nakamura, D. Citterio, K. Suzuki, *European Journal of Chemistry*, 15, 1096-1106 (2009).

【研究期間と研究経費】

平成24年度-28年度
157,400千円

【ホームページ等】

<http://suzuki-lab.applc.keio.ac.jp/>
suzuki@applc.keio.ac.jp