

生物の光で覗く生命のダイナミズム

近江谷克裕

産業技術総合研究所 ゲノムファクトリー研究部門

北海道大学 大学院医学研究科

発光イメージングは細胞から個体まで、生命のダイナミズムを長時間にわたり計測できる優れた手法である。本セミナーでは我々の研究成果を交えつつ発光イメージングの特徴からプローブの評価、そして現実の細胞、個体イメージングについてお話しする。併せて、研究者として感じる光る生物の魅力と、さらに今後の展望を語りたい。

2008年ノーベル化学賞は GFP を発見した下村脩らが受賞した。GFP を利用した蛍光イメージングは現代の生命科学を変えたと言っても過言ではなく、それまでの静止画像的な生命情報を動画として伝える画期的な手法として注目された。この蛍光イメージングによって、ゲノムプロジェクト等で明らかになりつつある細胞内のタンパク質（役者）群の動きが手に取るように明らかになったのである。しかしながら、蛍光イメージングでは GFP に励起光を当てる必要があり、光が到達できない生体深部の *in vivo* イメージングは難しいし、励起光による生体の光損傷を考慮する必要があることなどの細胞から個体までイメージングの世界において制約がある。そこで注目されてきたのが発光プローブによるイメージングである。発光イメージングは特に個体イメージングで力を発揮している。

発光イメージングに用いられるのが、光る生物から得られたルシフェリン、ルシフェラーゼである。簡単に定義すれば、発光生物より冷水抽出されるタンパク質のうち、ルシフェリンと反応して光を生み出す酵素をルシフェラーゼ、そして発光生物より有機溶媒や熱水で抽出される有機化合物のうち、ルシフェラーゼと反応して光を生み出す化合物をルシフェリンとなる。蛍光と発光の基本的な違いは、前者は、蛍光物質が励起光によって活性化され励起状態となり、これが基底状態に戻る時に光を発するのに対して、後者は化学反応によって生成した物質が励起状態となり、同じく基底状態に戻るとき光を発する点である。また、どちらの光の色も励起状態と基底状態のエネルギーギャップに依存する。表に発光イメージングに活用可能な生物発光の仕組みをまとめてみる。ポイントは、1) 冷光ともいわれる生物発光でも、発光量子収率は高くても 0.41 程度である。なお、発光量子収率とは発光基質 1 分子あたり 1 光子放出する確率である。2) 発光色は青 (460nm 前後) から黄色 (560nm 前後) が多い。但し、発光甲虫の赤色ルシフェラーゼなら最大発光波長が 630nm である。また、種々のルシフェリンアナログも作られ、短波長側では 380nm の光を発するものもある。一方個体イメージングにおいて近赤外光が一つの課題であるが、天然にこの波長のものは見つからない。3) ルシフェラーゼの中には細胞内に留まるものと分泌するものがあり、タンパク

質の寿命も多様である。4) 分子量も 20-60 kDa であるが、発光性の渦鞭毛藻では 130 kDa になるものもある。5) 酵素反応で必要とする補因子も多種多様である等、生物発光のシステムは驚くほど多様である。

ルシフェリン	発光タンパク質 生物由来	発光量子 収率	発光ピーク (nm)	分泌性	分子量 (kDa)
ホタルルシフェリン	アメリカ産 ホタル ルシフェラーゼ	0.41	562	非分泌型	60
ウミシイタケルシフェリン (セレンテラジン)	ウミシイタケ ルシフェラーゼ	0.05	480	非分泌型	36
セレンテラジン	発光クラゲ イクオリン	0.18	465	非分泌型	21
セレンテラジン	ガウシア ルシフェラーゼ	-	480	分泌型	20
ウミホタルルシフェリン	ウミホタル ルシフェラーゼ	0.3	460	分泌型	61

従来、ルシフェリン・ルシフェラーゼは遺伝子発現解析や ATP 計測として、一細胞を相手にするのでなく、細胞集団を相手にするバイオツールの世界で活躍していた。これは、発光強度の不足や計測機器の限界から分子イメージングの手法として不適格と考えられてきたためである。しかしながら、種々のルシフェラーゼや発光・蛍光融合タンパク質プローブの開発等による強度の向上や、高感度の冷却 CCD カメラを搭載した計測機器等の進歩から、発光イメージングの可能性が大きくクローズアップされた。発光イメージングは、特にマウス個体の観察や長時間にわたる細胞観察に威力を発揮、蛍光イメージングでは得にくい情報が得られる。よって、2つのイメージング手法の併用は生命情報を時間軸と空間軸の広がりの中で理解する上で重要な情報を与えることになる。

発光 *in vivo* イメージングの一つの例を示す。我々のグループではホタルルシフェラーゼ遺伝子を導入した全身で発光する TG マウスより皮膚組織を非発光マウスに移植した実験を行った。移植後、ルシフェリンを体内に注入すれば、移植組織のみ発光し、移植後の経過観察を発光イメージングで追跡することができる。また、ルシフェラーゼを導入した骨髓細胞を非発光マウスに移植した例では、脳内の海馬に炎症を起こすことで、骨髓細胞由来の発光するミクログリア細胞が海馬に増加することを、経時的に光の量の変化としてイメージングできる。つまり脳内における再生過程を生きたまま、長時間にわたり定量的に観察することができるのである。

このように発光イメージングは生命のダイナミズムを覗くユニークな技術である。生命科学の進展期である現在、「細胞から個体」、「秒から日オーダー」などと生体から得たい情報は多様である。また、実験法も *in vitro*、*in vivo*、*ex vivo* と多岐にわたる。これらの生命の多様な情報を結びつける技術として発光イメージングの活用が、今後益々に重要になろう。