

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01215

研究課題名(和文)多色人工生物発光を用いた低分子化学物質の生理活性評価プラットフォームの創製

研究課題名(英文)Creation of a multicolor bioluminescence platform for assaying bioactive small molecules

研究代表者

金 誠培 (Kim, Sung Bae)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・エネルギー・環境領域・主任研究員

研究者番号：60470043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,180,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低分子化学物質より引き起される生体内分子イベントの多色発光可視化により、革新的な低分子化学物質の評価プラットフォームを創製するものであった。そのためまず、基礎発光材料として虹色生物発光基質群などの合成と新規人工生物発光酵素群を樹立に成功した。更にこの組み合わせによりホルモン様化学物質・免疫毒性物質や催奇形性物質などの多色発光イメージングプローブ群を開発した。更にそれを動物個体でのイメージングや8チャンネル式光検出システム開発などに応用した。本研究成果は、今後の先進的な化学物質リスク評価基盤技術の開発、基礎医学分野における病気の前臨床診断など、関連学術振興に貢献する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低分子化学物質は生体内で多彩な分子イベント((1)リガンド結合、(2)蛋白質分解、(3)リン酸化など)を引き起こすことが知られており、各種疾病と分子生物学的な繋がりが深い。本研究の実施により低分子化学物質の複合的な生理活性を多色かつ網羅的に評価する研究基盤が創生されており、今後の化学物質の管理と健康リスク削減に向けた大きな技術的な進歩である。今後、化学・環境分野/基礎医学分野における毒性評価・各種病理現象の診断、薬学分野における薬剤候補物質スクリーニング等にも広く波及効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed at the development of an innovative assay platform for determining bioactive small molecules, through multicolor-imaging representative molecular events triggered by the molecules in living subjects. On this purpose, we first accomplished a series of new luciferins emitting full rainbow colors and a new lineage of artificial luciferases. With the combination of this new luciferin-luciferase systems, we created multicolor imaging probes, that rapidly visualize the activities of small chemicals exerting hormone-likeness, immunotoxicity, and teratogenicity. We further applied these probe systems to animal imaging and development of 8-channel light determination system. The currently accomplishments will greatly contribute to the future advancement in the research fields regarding the risk assessment of man-made chemicals and pre-clinical assays of human diseases.

研究分野：分析化学、環境学、基礎医学

キーワード：生物発光 化学物質 生理活性評価 プローブ イメージング 多色 発光基質 発光酵素

1. 研究開始当初の背景

化学物質による潜在的な健康リスクは貧困層や社会整備の不十分な開発途上国に顕著に現れる傾向があるが(Nature 2015, 527, S187)、効果的な化学物質試験法の確立によって潜在的なリスク削減と未来の社会費用低減効果が大きいと期待できる。しかしながら多様な化学物質に対して生体環境を反映した効果的な試験法は未だに定立されていない。

従来、化学物質に対しては全排水毒性試験法(Whole Effluent Toxicity; WET)などがあり、魚類や藻類に対する半数致死量 LD₅₀ 測定法に基づいている(Nature 1991, 353, 489)。しかしこの様な手法で化学物質が持つ複合的な生理活性や環境毒性を評価することは極めて難しい。レポーター遺伝子アッセイは、疑陽性発光や長い測定時間(1-2日)により高速評価には不向きである。

これらの背景から、生体環境を反映しつつ**低分子化学物質の複合的な生理活性を簡便かつ迅速に評価できる手法**が開発できれば、それから得られる社会的・学術的效果は極めて大きい。

2. 研究の目的

当研究では低分子化学物質により引き起される、病理現象と直結する代表的な分子イベントを多色発光により解析・評価する技術基盤の創生とその応用研究を遂行する。超高輝度人工生物発光酵素(ALuc®;産総研商標)のX線結晶構造を決定し、その知見を基に青色・赤色ALuc®とその特異的な発光基質を有機合成する。この基盤技術から低分子化学物質に発光する有機合成系および融合蛋白質系発光プローブを開発しマイクロスライド上の動物細胞に導入する。ホルモン様低分子化学物質により引き起こされる3大分子イベントを、真核細胞アレイ上で特異的な発光色から高速評価する。**本研究によって、多色発光に基づく革新的な低分子化学物質評価プラットフォームの創製から先進的な化学物質リスク評価基盤技術の開発、そして関連学術振興に貢献する。**

3. 研究の方法

本研究では、低分子化学物質により病理現象と直結する代表的な分子イベント(構造変化、核内移行、リン酸化)の**多色発光イメージングに資する基盤技術の創製とその応用研究を遂行する**。そのために、以下の戦略目標を定めて実施する：

- (1)人工生物発光酵素・基質の開発による光三原色発光基盤の創製(1-3年目)：
 - ①ALuc®の結晶構造解析による発光団近傍の電子の流れと発光メカニズムの解明(田辺G)
 - ②セレンテラジン系青色・赤色発光基質の有機合成(チッターリオG)
 - ③既開発の緑色に加え、新規青色・赤色ALuc®群の創製(金G) } 基質と酵素の二つのルートで多色化
- (2)前述した光三原色発光基盤より有機合成系化学発光プローブ(チッターリオG)と融合蛋白質系生物発光プローブ(金G)の開発と真核細胞内での実証(2-4年目)
- (3)8チャンネル式光検出機の基盤上に形成した、各臓器由来真核細胞アレイの基での化学物質のホルモン様作用の多色・高速評価(金G、チッターリオG)(3年目-4年目)

4. 研究成果

当該研究期間中、生物発光システムの多色化とその発光プローブ化などの応用、更に8チャンネル式光検出装置の開発に至るまでの各研究課題を遂行した。この基礎から応用に至る研究課題を共同研究者と遂行したことで、多数の研究成果を得ることができた。その内、重要な成果については以下の各項目別に分けて説明する。

これらの成果は、当初の研究目標を大きく上回る研究成果であると自評する。

(1) 多色発光基質・人工生物発光酵素群の新規開発

当該研究目的を達成するための基盤技術として、**多色発光を実現する新規発光基質と発光酵素の開発が重要課題であった。**

そこで本研究期間に取り組んだのは、①緑色・オレンジ・赤色蛍光色素付き発光基質群の有機合成(図1)、②発光酵素選択性を持つ発光基質群の有機合成(図2)：海洋生物由来の発光基質(セレンテラジン)骨格にC6位の官能基を修飾することで全可視光領域をカバーする発光色を生み出す基質類の合成ができた、③これらの発光基質を産総研独自のALuc®発光酵素と組み合わせ、「虹色発光イメージングシステム」と名付けた(図3)こと。また、生体イメージングに置いては、④近赤外線発光が重要であることに着目し、セレンテラジンに近赤外線蛍光色素を修飾した発光基質(Cy5-CTZと命名)を開発し動物細胞内における細胞小器官をイメージングすることに成功した(図4)。本研究により、励起スペクトルと発光スペクトルの間が、100nmもある長波長シフトしたTBET現象が観察できた。⑤更にこれらの発光基質と対応する発光酵素側に置いては、人工生物発光酵素群(ALuc®)の新規樹立(図5)を行った。ここでは、発光プラシト由来の発光酵素配列データベースより共通性の高いアミノ酸を抽出して繋ぎ合わせることで、人工的な発光酵素のアミノ酸配列を創製した。

他に、発光酵素の結晶化においても一定の糸口を掴むための研究を進めた。

これらの研究成果は、低分子化学物質により引き起こされる代表的な細胞内分子イベントを特異的な発光色によって高速評価するための、重要な基盤技術として位置づけられる。これらの成果を纏めてアメリカ化学会 (ACS) 雑誌やNature姉妹紙などで論文出版された。他にもこれらの成果のプレス発表を行った (業績欄参考)。このような努力により、当該研究目的を達成するための研究基盤が揃えるようになった。

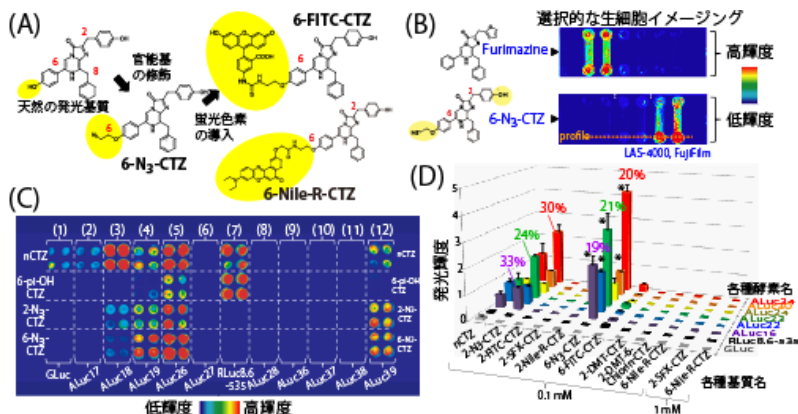


図1. 蛍光色素付き発光基質群の合成と動物細胞イメージングへの応用。(A) 天然の発光基質の官能基の修飾による基質開発の概要図。(B) 動物生細胞に対する発光基質の選択性。(C) 新規発光基質類と発光酵素群間の発光反応マトリックス。(D) 各発光酵素・発光基質間の反応における絶対輝度の比較。
参考文献: *Bioconjugate Chem.*, 2018, 29(6):1922-1931.

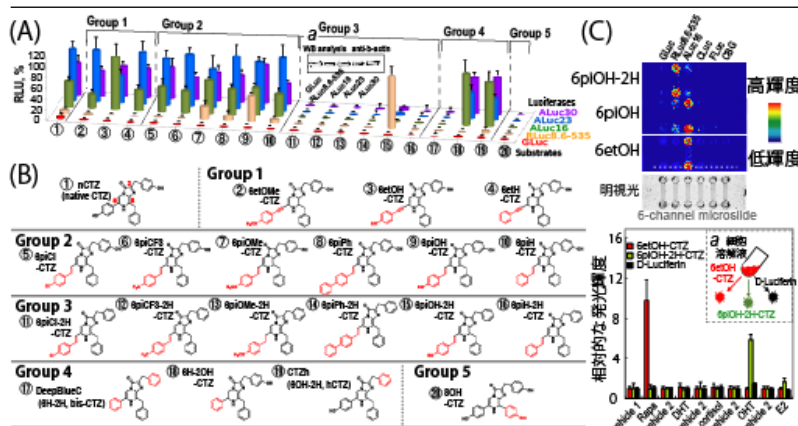


図2. 発光酵素選択的な発光基質の合成。①-⑳までの発光基質を合成し、その発光特性を研究した。ALuc や RLuc に特異的な発光基質を発見した。(A) 各発光基質の相対的な発光輝度。(B) 新規合成発光基質の化学構造。各化学構造の特徴により5つのグループに分類できる。(C) 発光酵素選択性を持つ発光基質による選択的な動物細胞イメージング例。
参考文献: *Scientific Reports* (NPG), 2017, 7, 908.

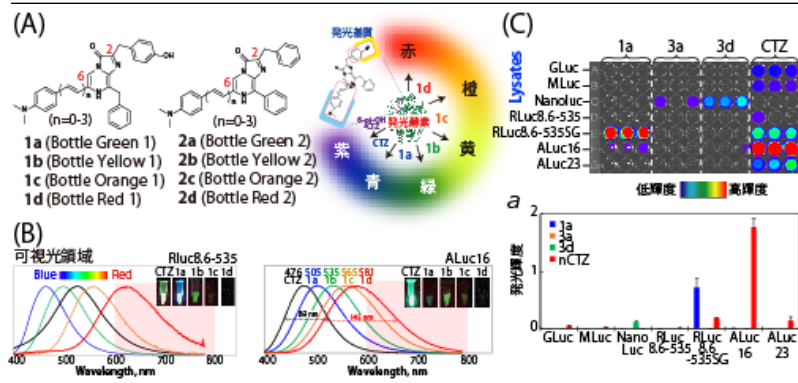


図3. 全可視光領域をカバーする虹色発光基質群の合成と動物細胞への応用。(A) 虹色発光基質群の化学構造設計。(B) 虹色発光基質群の生物発光スペクトル。(C) 上段: 虹色発光基質群の発光酵素選択性の検証。下段: 当該発光基質に選択的な発光酵素の輝度。参考文献: *Scientific reports*, 2021, 11, 2219 (NPG)、特願 2020-040703.

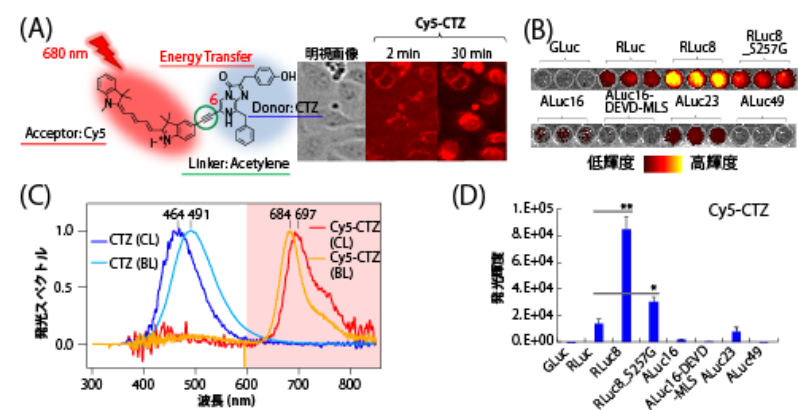


図4. 近赤外線発光基質 (Cy5-CTZ) の合成と動物細胞イメージングへの応用。(A) Cy5-CTZ の発光原理 (左) と動物細胞の細胞膜イメージング例 (右)。(B) Cy5-CTZ の発光酵素選択性の検証。近赤外線フィルター付きで輝度を比較した場合、RLuc8 に強く発光して近赤外線発光を放つことが分かる。(C) Cy5-CTZ の発光スペクトル。(D) Cy5-CTZ の相対的な発光輝度。
参考文献: *ChemBioChem*, 2019, 20, 1919-1923.

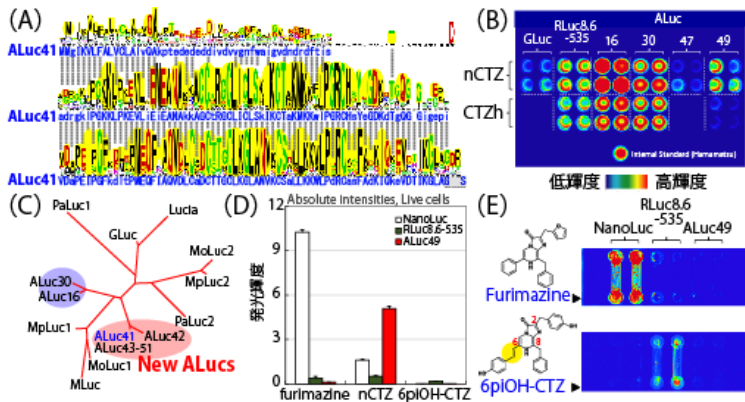


図 5. 新規人工生物発光酵素群 (ALuc®) の樹立。(A) 発光プラントンの発光酵素配列のデータベースより頻度の高いアミノ酸を抽出し繋ぎ合わせた人工配列 (ALuc®) の創製。(B) ALuc®群の動物細胞内での発光輝度の比較。(C) ALuc®群の遺伝系統図。(D) ALuc®群の基質依存的な発光輝度。(E) マイクロスライド上に培養した動物細胞に当該 ALuc®酵素を導入した際の基質依存的な発光イメージングの例。
参考文献: *ACS Combinatorial Science*, 2017, 19, 594-599.

(2) 多色発光イメージングプローブの開発と生体イメージング

前述した新規発光素材 (発光基質 + 発光酵素) を用いて新規生物発光システムの設計・開発に挑んだ。更に、その発光システムを動物細胞に適用し、化学物質の生理活性 (催奇形性、免疫毒性、重金属汚染など) の定量可視化を行った。最後には動物個体レベルでの発光イメージングにも成功した。具体的には、下記項目で説明する。

① 当該技術のモデル研究として、催奇形性物質の可視化イメージングプローブの開発を行った (図6)。催奇形性物質の例としてレチノイン酸を標的とし、様々な発光可視化プローブを設計し、マウスの癌組織や体液中のレチノイン酸の生理濃度を定量可視化できた。

② 他に人工生物発光酵素 (ALuc®) が持つ2価重金属感受性を利用した発光システムの特性研究を行った (図7)。本研究では、独特な発光プローブであるALuc®の2価重金属有無に依存する酵素活性の相違に着目し、その発光特性を反応速度論に立脚して研究した。

③ 生物発光エネルギー移動 (BRET) 現象を用いた発光プローブ開発も行った (図8)。この発光プローブには、免疫抑制物質であるラバマイシンに特異的に結合する蛋白質ペア (FRBとFKBP) を骨格としつつ、独自のALuc®と赤色蛍光蛋白質を繋げた分子構造である。このプローブをBRET9と命名し、動物細胞内での近赤外線発光イメージングや動物個体レベルでの発光イメージングに成功した。

④ また、有機合成した新規発光基質と発光酵素を組み合わせることにより、青色から近赤外線に300nmもエネルギーシフトする独特な発光イメージングシステムを開発した (図9)。この独特な発光プローブシステムは、近赤外線で発光シグナルを放つ特性があることから、NIR-BRETイメージングシステムと命名した。当該イメージングシステムを用いて、動物個体レベルでの女性ホルモン活性の可視化や癌の組織転移 (Metastasis) などの可視化イメージングに成功した。

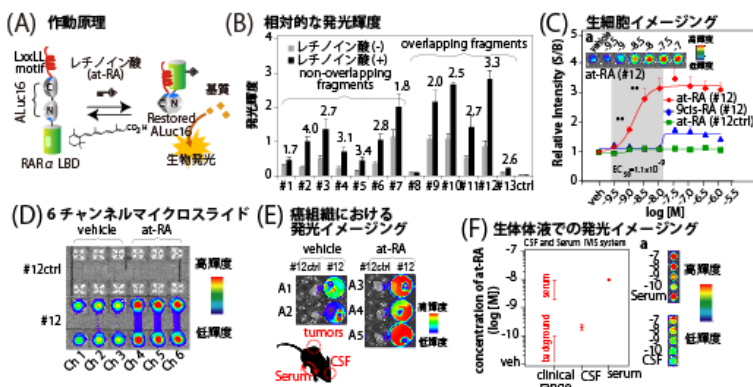


図 6. 催奇形性物質の可視化イメージングプローブの開発。(A) レチノイン酸活性の可視化プローブの作動原理。(B) 様々な分子構造を持つ発光プローブのレチノイン酸感受性の検証。動物細胞にレチノイン酸刺激の有無条件下で検証した。(C) 当該発光プローブの検量線グラフ。(D) マイクロスライド上での当該発光プローブのレチノイン酸感受性の可視化。(E) マウス癌組織におけるレチノイン酸有無に依存した発光イメージング例。(F) 生体体液中のレチノイン酸濃度の定量イメージング例。
参考文献: *ACS Comb. Sci.* 2019, 21(6), 473-481.

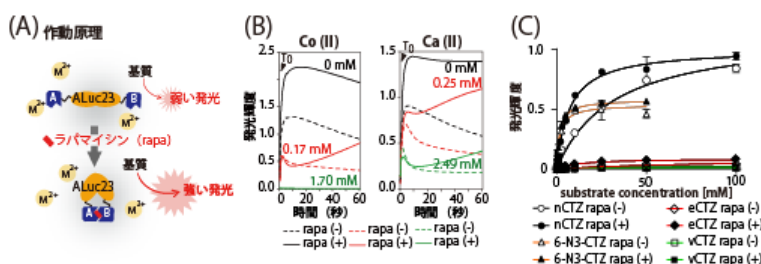


図 7. 人工生物発光酵素 (ALuc®) の2価重金属感受性を用いた環境分析例。(A) 2価重金属有無に依存したALuc®の発光輝度・プローブとしての作動原理。(B) 2価重金属に依存した発光輝度の変化。(C) 反応速度論に立脚した発光特性の検証。
参考文献: *Anal. Sci.*, 2019, 35(1), 71-78.

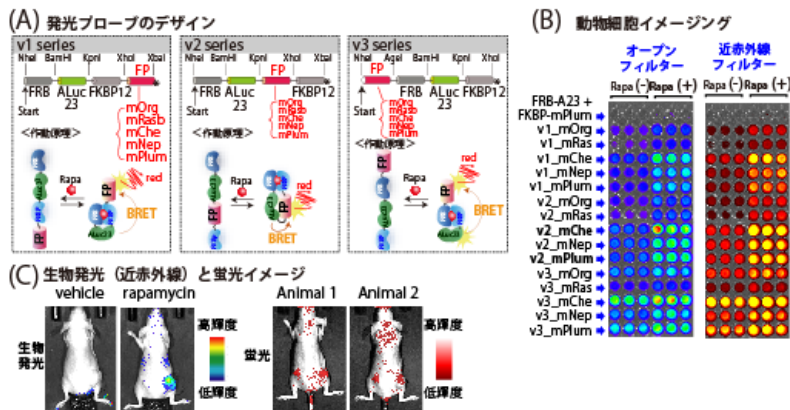


図 8. 生物発光エネルギー移動 (BRET) を用いた生物発光イメージングシステムの開発。(A) BRET 原理を用いた生物発光イメージングプローブの分子デザインと作動原理。(B) 各 BRET9 プローブのラパマイシン依存的な発光輝度のイメージング。リガンド依存的に強い近赤外線発光が観察される。(C) BRET 9 プローブを導入したマウス個体内での免疫毒性物質の可視化イメージング。
参考文献: *Chem. Commun.* 2020, 56, 281-284.

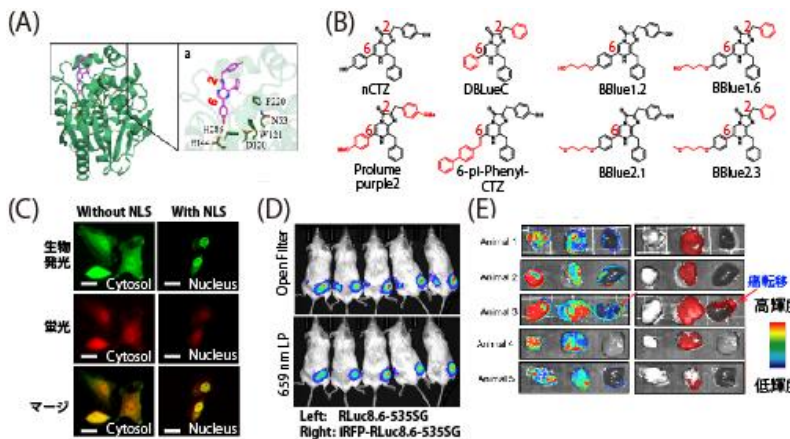


図 9. 青色から近赤外線 (300nm) にエネルギーシフトする生物発光イメージングシステムの開発。(A) ウミシイタケ由来の発光酵素 (RLuc) と基質間の発光反応モデル。(B) セレンテラジン基盤の新規生物発光基質の化学構造。(C) 当該発光イメージングシステムを適用した動物細胞の発光イメージ。(D) 当該発光システムを適用したマウス個体内での発光イメージング。(E) マウス内臓組織における癌転移有無の検証イメージング。
参考文献: *Theranostics* (IP: 8.5), 2019, 9(9), 2646-2661.

(3) 8 チャンネル式光検出システムの開発

前述した生物発光システムを最大限に活用するためにはその特性に合わせた発光検出システムが必要である。そこで、本研究では、多数の化学物質の生理活性をスクリーニングするために、多数の発光サンプルで同時測定のできる、新たな多チャンネル式光検出システムを開発した (図 10)。更に各チャンネル間の感度補正のためのアルゴリズムを開発した。当該システムを用いて、動物血液中のアルカリフォスファターゼ活性を迅速に可視化イメージングした。本装置に関連して特殊な標準化アルゴリズムを有するソフトウェアを産総研で知財登録した (2020PR0-2460)。

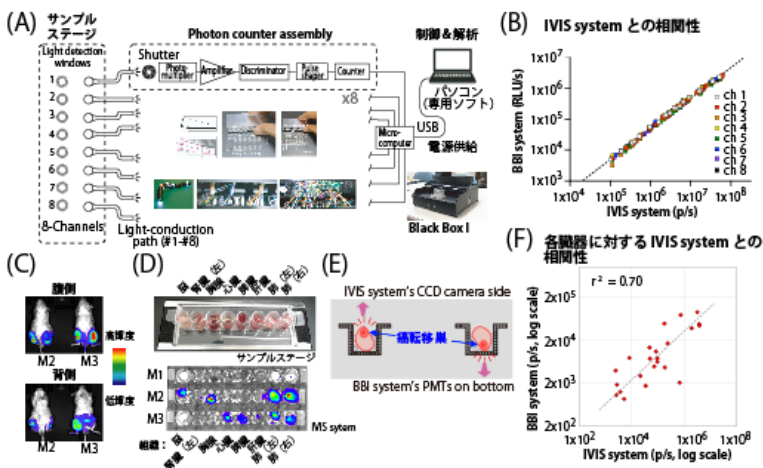
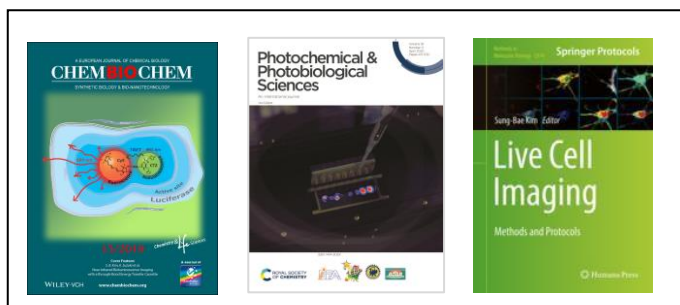


図 10. 8 チャンネル式光検出システムの開発。(A) 本 8 チャンネル式光検出システムの内部構造。(B) 本光検出システムと従来の IVIS システムとの検出結果の相関性検証。(C) ホタルの発光イメージングシステムを搭載したマウスのイメージ。(D) 前述マウス個体の解剖と各臓器における癌細胞転移の検証イメージング。(E) 各臓器からは発光発信メカニズム。(F) マウスの各臓器に対する、8 チャンネルシステムと従来の IVIS システムとの相関性検証。
参考文献: *Photochem Photobiol Sci* 2020, 19, 524-529、特願 2020-044513。

(4) その他の研究成果。

その他、これらの研究成果は一部の論文誌の表紙を飾ることになった。

また一部の研究成果は、本研究代表者が Editor を務めた「Live Cell Imaging」という単行本に纏められた。Springer-Nature (New York) より出版された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nanako Nomura, Ryo Nishihara, Takahiro Nakajima, Takahiro Nakajima, Sung Bae Kim, Naoko Iwasawa, Yuki Hiruta, Shigeru Nishiyama, Moritoshi Sato, Daniel Citterio, Koji Suzuki	4. 巻 91 (15)
2. 論文標題 Biothiol-Activatable Bioluminescent Coelenterazine Derivative for Molecular Imaging in Vitro and in Vivo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 9546-9553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b00694	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sung Bae Kim, Sharon Seiko Hori, Negar Sadeghipour, Uday Kumar Sukumar, Rika Fujii, Tarik F. Massoud, and Ramasamy Paulmurugan	4. 巻 19
2. 論文標題 Highly Sensitive Eight-Channel Light Sensing System for Biomedical Applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Photochem Photobiol Sci	6. 最初と最後の頁 524 - 529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0PP00017E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sung Bae Kim, Rika Fujii, Arutselvan Natarajan, Tarik F. Massoud and Ramasamy Paulmurugan	4. 巻 56
2. 論文標題 Ligand-activated BRET9 imaging for measuring protein-protein interactions in living mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 281-284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CC07634D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kim, Sung Bae; Fujii, Rika; Nishihara, Ryo; Bose, Rajendran J. C.; Citterio, Daniel; Suzuki, Koji; Massoud, Tarik F.; Paulmurugan, Ramasamy	4. 巻 21(6)
2. 論文標題 Molecular Imaging of Retinoic Acids in Live Cells Using Single-Chain Bioluminescence Probes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Combinatorial Science	6. 最初と最後の頁 473-481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscobsc.9b00035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Masahiro Abe, Ryo Nishihara, Yuma Ikeda, Takahiro Nakajima, Moritoshi Sato, Naoko Iwasawa, Shigeru Nishiyama, Ramasamy Paulmurugan, Daniel Citterio, Sung Bae Kim (CA), and Koji Suzuki	4. 巻 20
2. 論文標題 Near Infrared bioluminescence imaging with Through-Bond Energy Transfer Cassette	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem, 2019, 20,	6. 最初と最後の頁 1919-1923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201900149	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ryo Nishihara, Ramasamy Paulmurugan, Takahiro Nakajima, Eiji Yamamoto, Arutselvan Natarajan, Rayhaneh Afjei, Yuki Hiruta, Naoko Iwasawa, Shigeru Nishiyama, Daniel Citterio, Moritoshi Sato, Sung Bae Kim (CA) and Koji Suzuki	4. 巻 9(9)
2. 論文標題 Highly bright and stable NIR-BRET with blue-shifted coelenterazine derivatives for deep-tissue imaging of molecular events in vivo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Theranostics	6. 最初と最後の頁 2646-2661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/thno.32219	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sung Bae Kim, Ryo Nishihara, Rika Fujii, Ramasamy Paulmurugan, Daniel Citterio, and Koji Suzuki	4. 巻 35(1)
2. 論文標題 In vitro Determination of Rapamycin-Triggered FKBP-FRB Interactions Using a Molecular Tension Probe	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 71-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18SDP08	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ryo Nishihara, Emi Hoshino, Yoshiki Kakudate, Satoshi Kishigami, Naoko Iwasawa, Shin-ichi Sasaki, Takahiro Nakajima, Moritoshi Sato, Shigeru Nishiyama, Daniel Citterio, Koji Suzuki, Sung Bae Kim	4. 巻 29(6)
2. 論文標題 Azide- and Dye-Conjugated Coelenterazine Analogues for a Multiplex Molecular Imaging Platform	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1922-1931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.8b00188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuma Ikeda, Takahiro Nomoto, Yuki Hiruta, Nobuhiro Nishiyama, Daniel Citterio	4. 巻 92
2. 論文標題 Ring-Fused Firefly Luciferins: Expanded Palette of Near-Infrared Emitting Bioluminescent Substrates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 4235-4243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b04562	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishihara Ryo, Abe Masahiro, Nishiyama Shigeru, Citterio Daniel, Suzuki Koji, Kim Sung Bae	4. 巻 7
2. 論文標題 Luciferase-Specific Coelenterazine Analogues for Optical Contamination-Free Bioassays	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-00955-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sung Bae Kim, Ryo Nishihara, Daniel Citterio, and Koji Suzuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Fabrication of a New Lineage of Artificial Luciferases from Natural Luciferase Pools	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Combinatorial Science	6. 最初と最後の頁 594-599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscombsci.7b00081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryo Nishihara, Emi Hoshino, Yoshiki Kakudate, Satoshi Kishigami, Naoko Iwasawa, Shin-ichi Sasaki, Takahiro Nakajima, Moritoshi Sato, Shigeru Nishiyama, Daniel Citterio, Koji Suzuki, Sung Bae Kim	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Azide- and Dye-Conjugated Coelenterazine Analogues for a Multiplex Molecular Imaging Platform	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry (ACS)	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.8b00188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 金誠培 藤井理香	4. 巻 34
2. 論文標題 化学物質による生理活性の発光イメージング	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharm Tech Japan	6. 最初と最後の頁 347-352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamaki Shota, Kitada Nobuo, Kiyama Masahiro, Fujii Rika, Hirano Takashi, Kim Sung Bae, Maki Shojiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Color-tunable bioluminescence imaging portfolio for cell imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-81430-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 KIM Sung-Bae, PAULMURUGAN Ramasamy	4. 巻 37
2. 論文標題 Bioluminescent Imaging Systems for Assay Developments	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 233-247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20R003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Ramasamy Paulmurugan, Sung-Bae Kim, Ryo Nishihara, Rayhaneh Afjei, Jagathesh Chandra Bose Rajendran, Uday Kumar, Tarik Massoud, Sanjiv Sam Gambhir
2. 発表標題 Molecular Imaging of Immune Checkpoint Blockade in a Humanized Mouse Model of Triple Negative Breast Cancer Metastasis to Lungs using a New Deep Tissue Near- Infrared Bioluminescence Resonance Energy Transfer (NIR-BRET) System
3. 学会等名 World molecular imaging congress (WMIC) 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金 誠培; 西原 諒; 佐藤 守俊; Citterio, Daniel; 鈴木 孝治; Paulmurugan, Ramasamy
2. 発表標題 Highly bright and stable NIR-BRET imaging systems for deep-tissue imaging of molecular events in vivo
3. 学会等名 日本分析化学会、第68回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培; 西原 諒; Citterio, Daniel; 鈴木 孝治
2. 発表標題 Azide- and Dye-Conjugated Coelenterazine Analogues for a Multiplex Molecular Imaging Platform
3. 学会等名 日本分析化学会、第68回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培; 阿部 将大; 西原 諒; Paulmurugan, Ramasamy; Citterio, Daniel; 鈴木 孝治
2. 発表標題 Near Infrared bioluminescence imaging with Through-Bond Energy Transfer Cassette
3. 学会等名 日本分析化学会、第68回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培; 西原 諒; Citterio, Daniel; 鈴木 孝治; Paulmurugan, Ramasamy
2. 発表標題 Molecular imaging of retinoic acids in live cells using single-chain bioluminescence probes
3. 学会等名 日本分析化学会、第68回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培; 藤井 理香; Paulmurugan, Ramasamy
2. 発表標題 Ligand-Activated Reporter Protein Conformation for BRET Imaging of Protein-Protein Interactions in Living Mice
3. 学会等名 日本分析化学会、第68回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培; 西原 諒; 佐藤 守俊; 中島 隆浩; 藤井 理香; Daniel Citterio; Ramasamy Paulmurugan; 鈴木孝治
2. 発表標題 NIR-BRET imaging system for deep-tissue illumination of molecular events in vivo
3. 学会等名 JABC 生物発光化学発光研究会 第35回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sung Bae Kim; Rika Fujii; Ryo Nishihara; Daniel Citterio; Koji Suzuki; Ramasamy Paulmurugan
2. 発表標題 Genetically encoded bioluminescent probes for imaging retinoic acids in live cells
3. 学会等名 JABC 生物発光化学発光研究会 第35回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuma Ikeda, Takahiro Nomoto, Yuki Hiruta, Nobuhiro Nishiyama, Daniel Citterio
2. 発表標題 Ring-Fused Firefly Luciferins: Expanded Palette of Structure-Inherent Near-infrared Emitting Bioluminescent Substrates
3. 学会等名 PITTCON 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田裕真, 野本貴大, 蛭田勇樹, 西山伸宏, チッテリオ タ"ニエル
2. 発表標題 発表標題 環融合戦略を基盤とした近赤外発光ホタルルシフェリン誘導体群の創製
3. 学会等名 第35回生物発光化学発光研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuma Ikeda, Takahiro Nomoto, Yuki Hiruta, Nobuhiro Nishiyama, Daniel Citterio
2. 発表標題 Structure-luminescence relationship of near-infrared firefly luciferin analogues
3. 学会等名 The ACS Fall 2019 National Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 誠培, Sharon Hori, Ramasamy Paulmurugan
2. 発表標題 Highly Sensitive Eight-Channel Light Sensing System for Biomedical Applications
3. 学会等名 日本分析化学会、第69回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金 誠培, 西原 諒, 鈴木 孝治
2. 発表標題 In vitro Determination of Rapamycin-Triggered FKBP-FRB Interactions Using a Molecular Tension Probe
3. 学会等名 日本分析化学会、第69回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金 誠培、北田 昇雄、牧 昌次郎
2. 発表標題 Color-Tunable Bioluminescence Imaging Platform for Cell Imaging
3. 学会等名 日本分析化学会、第69回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金 誠培、西原 諒、Daniel Citterio
2. 発表標題 Luciferase-Specific Coelenterazine Analogues for Optical Contamination-Free Bioassays
3. 学会等名 日本分析化学会、第69回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金 誠培、西原 諒、Daniel Citterio、鈴木 孝治
2. 発表標題 Fabrication of a New Lineage of Artificial Luciferases from Natural Luciferase Pools
3. 学会等名 日本分析化学会、第69回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 織岡 真理子・水井 侑希・江口 正敏・池田 裕真・吉村 英哲・小澤 岳昌・ダニエル チッテリオ・蛭田 勇樹
2. 発表標題 長時間・高感度のバイオイメージングを目指した新規Caged Furimazineの開発
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 織岡 真理子・水井 侑希・江口 正敏・池田 裕真・吉村 英哲・小澤 岳昌・ダニエル チッテリオ・蛭田 勇樹
2. 発表標題 長時間・高感度のバイオイメージングを目指した生物発光基質フリマジン誘導体の開発
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuo Kitada, Ryohei Saito, Satoshi Iwano, Masahiro Kiyama, Rika Obata, Takashi Hirano, Shojiro Maki
2. 発表標題 Innovation of NIR luciferin analogues using firefly bioluminescence for in vivo imaging
3. 学会等名 The World Molecular Imaging Congress2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Genta Kamiya, Nobuo Kitada, Ryohei Saito, Satoshi Iwano, Rika Obata, Takashi Hirano, Shojiro A Maki
2. 発表標題 Development of new luciferin analogues that emit near-infrared light through firefly bioluminescence 長時間・高感度のバイオイメージングを目指した新規Caged Furimazineの開発 (4/
3. 学会等名 The World Molecular Imaging Congress2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Genta Kamiya, Nobuo Kitada, Ryohei Saito, Satoshi Iwano, Atsushi Miyawaki, Takashi Hirano, Shojiro Maki
2. 発表標題 Development of new luciferin analogues that emit near-infrared light through firefly bioluminescence
3. 学会等名 The Irago Conference 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北田昇雄, 玉城翔太, 木山正啓, 金誠培, 平野誉, 牧昌次郎
2. 発表標題 マルチカラー発光を示す海洋生物由来発光システムの開発
3. 学会等名 日本化学会第101回春季年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計7件

1. 著者名 Sung-Bae Kim	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 447
3. 書名 Live Cell Imaging	

1. 著者名 Sung-Bae Kim, Rika Fujii	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 9
3. 書名 Chapter 5 “A New Lineage of Artificial Luciferases for Mammalian Cell Imaging”	

1. 著者名 Masahiro Abe, Ryo Nishihara, Sung-Bae Kim, Koji Suzuki	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 7
3. 書名 Chapter 10 “Near Infrared Bioluminescence Imaging of Animal Cells with Through-Bond Energy Transfer Cassette”	

1. 著者名 Ryo Nishihara, Emi Hoshino, Yoshiki Kakudate, Koji Suzuki, Sung-Bae Kim	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 15
3. 書名 Chapter 11 “Azide- and Dye-Conjugated Coelenterazine Analogues for Imaging Mammalian Cells”	

1. 著者名 Ryo Nishihara, Masahiro Abe, Koji Suzuki, Sung-Bae Kim	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 12
3. 書名 Chapter 12 “Luciferase-Specific Coelenterazine Analogues for Optical Cross-talk-Free Bioassays”	

1. 著者名 Ryo Nishihara, Koji Suzuki, Sung-Bae Kim, Ramasamy Paulmurugan	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 13
3. 書名 Chapter 21 “Highly bright NIR-BRET system for imaging molecular events in live cells”	

1. 著者名 Sung-Bae Kim, Rika Fujii, Ramasamy Paulmurugan	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer US	5. 総ページ数 9
3. 書名 Chapter 22 “Ligand-Activatable BRET9 Probes for Imaging Molecular Events in Living Mammalian Cells”	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 生物発光酵素の長波長発光基質	発明者 金 誠培(50%)、牧 昌次郎(25%)、北 田 昇雄(25%)	権利者 産業技術総合研 究所他
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-040703	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 マルチチャンネル光検出装置	発明者 金 誠培 (100%)	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-044513	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>プレス発表1：人工生物発光酵素（ALuc；産総研商標）に選択的に発光する基質を開発 http://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/2017/nr20171211/nr20171211.html プレス発表2：蛍光色素付き発光基質による多色発光基盤技術の開発 https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2018/pr20180517_2/pr20180517_2.html プレス発表3：全可視光領域で発色する虹色発光標識のポータルフォリオを開発 https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2021/pr20210126_2/pr20210126_2.html</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	チッテリオ ダニエル (Citterio Daniel) (00458952)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・教授 (32612)	
研究分担者	田辺 幹雄 (Tanabe Mikio) (00716871)	大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・特任准教授 (82118)	
研究分担者	牧 昌次郎 (Maki Shojiro) (20266349)	電気通信大学・大学院情報理工学研究所・准教授 (12612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------