

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号： 8 2 6 2 6

研究種目： 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間： 2016 ~ 2019

課題番号： 1 5 K K 0 0 2 9

研究課題名（和文）発光性細胞株アレイを用いた高速PM2.5評価系の構築（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）High throughput assay system for PM2.5 with bioluminescent cell arrays(Fostering Joint International Research)

研究代表者

金 誠培（Sung Bae, Kim）

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： 6 0 4 7 0 0 4 3

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,900,000 円

渡航期間： 28 ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究では、スタンフォード大学医学部MIPSと連携し、我々により独自に開発した多機能性発光基質とプローブを哺乳細胞や動物個体イメージングへと展開する、様々な研究を遂行した。まず基礎発光材料として、酵素選択的な発光基質や蛍光色素付き発光基質、TBET式発光基質、ALuc40番台の人工発光酵素を開発した。更にこの発光材料を基に、レチノイン酸活性可視化プローブ、BRET9式発光プローブ、近赤外線（NIR）生物発光イメージングシステムなどを開発し動物実験にも応用した。他に多チャンネル式光検出システムの高度化研究も遂行した。研究期間中、多数の研究業績が得られ、本研究を世界に広める貴重な機会であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工・天然化合物は数年以内に1億種を超え、化学物質の影響がただ一つの国に留まらない時代である。本研究期間中、本研究者はアメリカに渡り、「化学物質の生理活性」を生物発光で評価する研究を行い多数の国際共著論文を出版できた。世界の化学物質の流通量も年々増えている中で、本共同研究で行った「化学物質に起因する病理現象の可視化イメージング」は、環境・医学分野の新たな融合の可能性を試すものであり、付随する人的ネットワークの構築は今後の相互研究協力関係の拡大に資するものであった。滞在したスタンフォード大学（シリコンバレー）での産学連携活動を現場で見るチャンスでもあった。

研究成果の概要（英文）：A broad spectrum of coworks was conducted ranging from synthesis of multifunctional luciferins and probes to imaging of mammalian cells and animals, through collaboration with MIPS, Stanford School of Medicine. In specific, we developed luciferase-selective luciferins, fluorophore-linked luciferins, TBET luciferins, and the 40 series of artificial luciferases as basic ingredients. We applied the basic materials to the development of retinoic acid-sensing probes, BRET9-type probes, and near infrared imaging system. The probes are even proven to be useful for animal imaging. We further improved a multichannel light sensing system. The present project was a precious chance to expend the research territory to the world through the international collaboration.

研究分野： 分析化学

キーワード： 生物発光 可視化 イメージング バイオアッセイ ルシフェラーゼ 近赤外線 発光基質 発光酵素

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

人工・天然化合物は数年以内に1億種を超える見込み(CAS ホームページ最新版)で、年々急増しているにも関わらず、その生理活性評価は未だに魚類や藻類に対する半数致死量(LD<sub>50</sub>)測定法(Nature, 1991, 353, 489)やその派生法(ヨーロッパのWET等)に依存している。

年々増える化学物質の開発速度・貿易量と越境汚染に対処するためにも、国際連携の必要性は益々重視されている。そして、この国際的な環境・医学連携共同研究を行うことで、化学物質生理活性の発光信号化から病理現象解明に至る技術的空白を埋めることができ、従来のLD<sub>50</sub>法やレポーターアッセイ等に依存した化学物質の生理活性評価からの技術的飛躍が期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究では、今までの研究成果を踏まえ、渡航先の研究室との相互補完的な連携課題として「化学物質の生理活性の定量可視化と発光信号解析技術の開発」を目的とする。化学物質により起こる代表的な生理現象例は、ホルモン様活性、細胞毒性、炎症作用である。何れも細胞の核内受容体の移行を含む多段階の分子イベントをもたらす。その内の代表的な分子イベントは、それぞれ重要疾患との関連が強い。もしこれらの分子イベントを刺激する化学物質があれば病理現象との関連性も否定できない。

そこで、本研究者独自の化学物質生理活性可視化プローブと研究プラットフォームを、スタンフォード大医学部の分子イメージングプログラム(MIPS)の共同研究者が持つ発光信号定量化・臨床解析技術と融合させることで、化学物質による代表的な3つの病理現象の診断に繋がる糸口を掴むことに挑戦する。この環境・医学連携により化学物質の生理活性評価と診断に資する革新的な発光プラットフォームの完成に繋げる。

## 3. 研究の方法

本研究では、MIPSと連携し、本研究者が開発してきた発光可視化技術(超高輝度発光酵素とプローブ、炎症・細胞死を中心とした化学物質の生理活性評価技術)と先方の得意技術である病気診断に繋げる関係技術(光の定量可視化技術、IVIS®システムによる病理現象の診断技術)を融合することにより、分子イメージングを軸にかつてない迅速さと高感度性を持つ「化学物質の生理活性評価法」の創出を目指して研究を進めた。

これまでの研究成果を踏まえ、本研究期間中、細胞内の3大分子イベントを中心に(1)化学物質生理活性の可視化システム開発と(2)発光信号の定量解析技術の研究を進めてきた。

## 4. 研究成果

本研究期間中、前述した研究目的に基づき、以下のような研究を遂行した。

### ① 化学物質生理活性の発光評価プラットフォームの開発

「発光診断技術」において、特定発光酵素に特異的な発光信号を創り出すことができれば、多検体同時診断など、技術的に大きい進展である。本研究では、人工生物発光酵素(ALuc®)に特異的に発光する発光基質類の開発およびその立体構造解析研究を行った。

本研究では、ALuc®やウミシイタケ発光酵素(RLuc)に特異的に発光する発光基質を多数合成した。この人工発光基質は、本来の発光基質(セレンテラジン)骨格のC2とC6位置の官能基を他のものに差し替えることにより作りあげた。一方、発光酵素においても、ALuc®とRLucを基本骨格にそれぞれ一分子型生物発光プローブを開発した。通常、複数の発光酵素(または発光プローブ)が共存している場合、相互間の発光信号の相互干渉が起こるが、本発光システムでは発光基質がそれぞれの発光酵素に特異的であるため、発光信号間の相互干渉が起こらない。この発光システムでは、女性ホルモン阻害剤と免疫毒性物質(ラパマイシン)に対してそれぞれ特異的な発光輝度を示すことが測定できた。この結果は、多数のプローブの同時計測の可能性を示すものであり、これまでなかった新たな発光評価システムが開発できた。

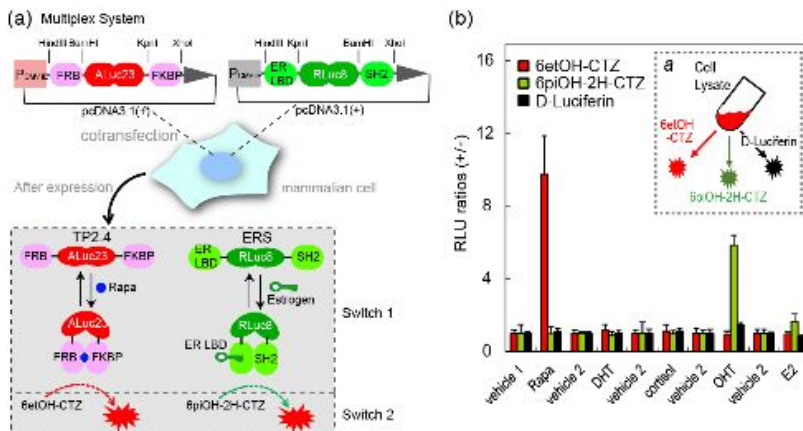


図1. 発光基質に特異的に発光する新規発光評価システム。(a) 当該発光システムの大要遺伝子構成。二つの一分子型発光プローブをコードする遺伝子を動物細胞に導入する。(b) 当該細胞は、発光基質と刺激化合物に特異的に発光することが分かる。

<Nishihara et al., Kim (交信著者) *Sci. Reports*, 2017, 7, 908>

## ② 新規人工生物発光酵素 (ALuc®) 群の樹立と応用

発光システムの高性能化には、発光酵素の性能改善が有効であり、他の研究に波及効果の大きい基盤研究である。

これまで人工生物発光酵素 (ALuc®) の研究を続けてきており、今回の研究により ALuc30 番台に留まっていた ALuc® 類の種類数を 40 番台まで伸ばした。この新たな発光酵素群の

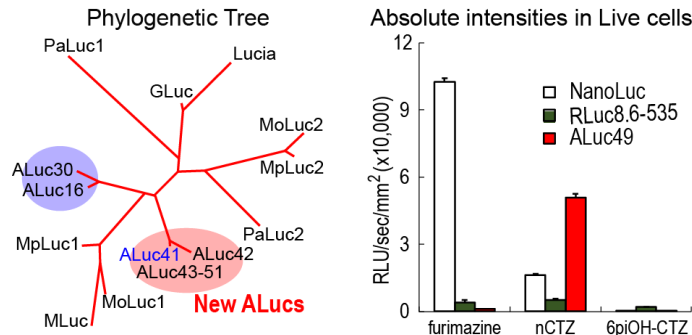


図 2. 新規人工生物発光酵素群 (ALuc®) の開発と応用。左: 新たに樹立された ALuc® 類 (ALuc41-51) の遺伝系統図。右: 各発光酵素の基質選択性の比較。

樹立と共に、その発光特性 (輝度、安定性、基質選択性) に関する基礎研究を行った。また、ALuc40 番台の新規酵素をバイオアッセイに適用できるよう応用研究も実施した。その結果、ALuc47 はネイティブセレンテラジン (nCTZ; 基質) に高い選択性を持つことが分かった。とりわけ ALuc49 は優れた発光輝度を示すことが分かった。<Kim et al., *ACS Comb. Sci.*, 2017, 19, 594>

## ③ 蛍光色素付きの発光基質群の開発と多色イメージング

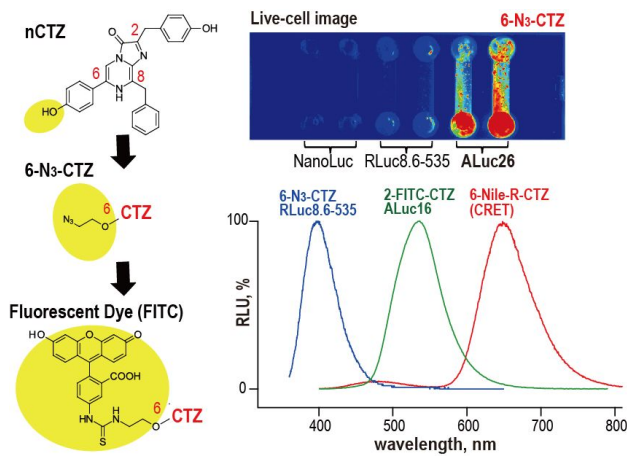


図 3. 新規「蛍光色素付き発光基質」群の開発と応用。左: 当該発光基質の合成の流れ。本来の海洋生物由来の発光基質 (セレンテラジン; nCTZ) の C6 位置の官能基を蛍光色素に替える。右: 本発光基質を用いた生細胞イメージングと発光スペクトルの特性。

本研究では、海洋発光生物の発光基質 (nCTZ) の C2 や C6 位置に蛍光色素を付けることにより、発光共鳴エネルギーが蛍光側に流れて光る現象 (生体発光共鳴エネルギー移動; BRET) を引き起こすことを目指した。この利点は、短波長の発光が BRET により長波長側で光るため、組織透過性の優れた分子イメージングができることである。

本研究では、図 3 で示したように、nCTZ の C2 や C6 位置に各種蛍光色素を付けたものを多数有機合成した。その中には、Fluorescein、DMT、Nile Red、Chlorin などの蛍光色素を導入した発光基質を含む。

その結果、新しく合成された発光基質は、独特な BRET スペクトルを示した。また、一部の発光基質においては、特定の発光酵素に特異的に発光し

た。例えば、生細胞の中で、ALuc26 は 6-N3-CTZ と強い発光輝度を示した (図 3)。<Nishihara et al. Kim (交信著者), *Bioconjugate Chem.*, 2018, 29, 1922>

## ④ 非細胞系発光システムでの免疫毒性物質の発光可視化

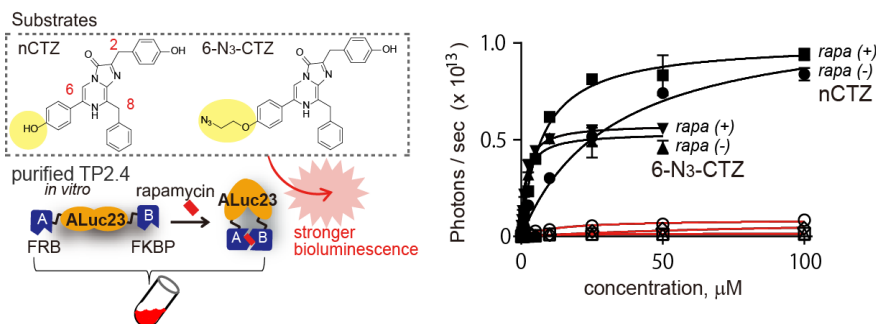


図 4. 非細胞系における分子歪みセンサー (TP2.4) の発光特性研究。左: TP2.4 はリガンド刺激により分子内結合が起こると分子歪みが起こり、分子内に挟まれた発光酵素の輝度が上がる特殊な現象が起こる。精製した TP2.4 は、細胞系と同様なリガンド特異性を示すことが分かった。

これまでの多くの研究は、細胞の中で発現した発光プローブを基に発光輝度を観察してきた。しかし、本研究者の発光プローブは、一分子型生物発光プローブであるため、非細胞系で用いてもリガンド認識能に問題なく、診断キットとして用いるの



に有利である。

そこで本研究者は、分子歪みセンサー(**TP2.4**)の遺伝子を大腸菌に導入し大量発現させ、カラム精製した。更に非細胞系条件における**TP2.4**のリガンド有無に関わる基質選択性と、基質濃度依存性などを研究した。これらの結果は、一分子型生物発光プローブが非細胞系で使われてもリガンド認識能を維持し、基質特異性にも特に問題ないことを確認した。また基質の濃度依存性においても特殊な相関を示すことが分かった(図4)。**<Kim et al., Anal. Sci., 2019, 35, 71>**

### ⑤ 近赤外(NIR)生物発光イメージングシステムの開発

近赤外線(NIR)の発光信号は、生体内でヘモグロビンなどによる吸収損失が少ないため、世界的に競争の激しい研究分野である。本研究では、近赤外蛍光蛋白質(**iRFP**)の吸収スペクトルピークが2カ所あり、その1つが400 nm 近傍であることに着目した。即ち、400 nm 近傍の発光スペクトルを示す発光システムと**iRFP**を繋げることで相互間に**BRET**を引き起こし、その結果、NIR 領域に**BRET** 信号が出るように工夫した。

この独特な発光システムをマウス個体に導入し、肺での肝細胞イメージングや臓器への癌転移などを特異的にイメージングできた(図5)。

**<Nishihara et al. Theranostics, 2019, 9, 2646>**

### ⑥ 新規TBET式発光基質の合成と細胞イメージング

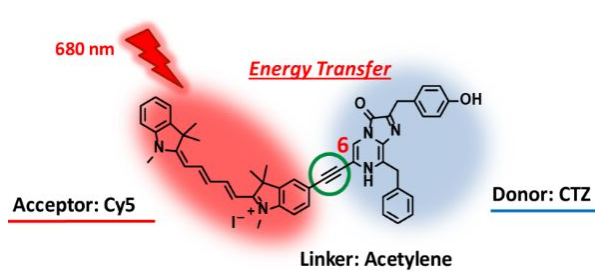


図6. 共鳴エネルギーが3重結合バンドを経由して発光色素に伝わるという独特な発光エネルギー現象(TBET)に基盤した発光イメージング。このため、nCTZ 骨格にCy5 蛍光色素を繋げ、その両者間には3重結合バンドを設けた。その結果、動物細胞系で独特な近赤外線発光イメージングが実現できた。

バンドを経由して発光色素に伝わるという独特なエネルギー移動現象(TBET)を研究した。TBETを実現するために、nCTZ 骨格のC6位置にCy5を3重結合を介して繋げた。この特殊な発光基質は、化学的安定性が優れており、生細胞などでの特異的な発光イメージングが実現できた。**<Abe et al., ChemBioChem, 2019, 20, 1919>**

### ⑦ 催奇形性物質の可視化イメージングプローブの開発

レチノイン酸はビタミンAの誘導体にも関わらず、発生毒を誘発し奇形児の原因であることが知られている。

本研究ではレチノイン酸(all-trans-retinoic acid; at-RA)活性の可視化プローブの開発に取り組んだ。その結果、円順列置換式の一分子生物発光プローブを開発できた(図6)。この発光プローブは、レチノイン酸共存下で、折りたたみ、発光活性を取り戻すために、発光輝度により定量イメージングができる。この発光プローブを用いて、生細胞におけるレチノイン酸の選択的なイメージングに成功しており、マウス個体から抽出した癌組織のイメージングにも成功

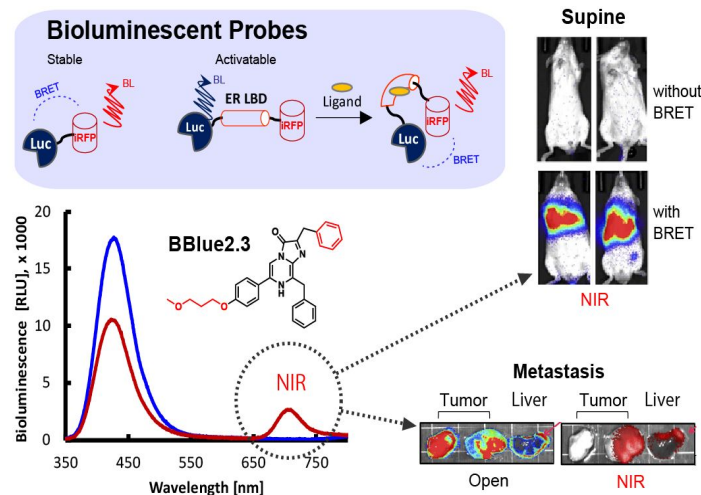


図5. 近赤外線(NIR)生物発光イメージングの概要。NIR 信号を創出するために、iRFP とウミシイタケ発光酵素(Luc)を繋げた。このプローブを発現する癌細胞を動物に移植させると、容易に癌細胞転移がイメージングできた。

従来、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)やBRETなどが広く使われてきたが、一般的に分子設計に難点があり、想定したほど、エネルギー移動現象が著しく観察されない問題があった。

本研究では、発光酵素と蛍光色素を3重結合により繋げることに、共鳴エネルギーが3重結合

した(図7)。この成果を、アメリカ化学会の専門雑誌 (**Kim et al., ACS Comb. Sci., 2019, 21, 473**) に報告した。

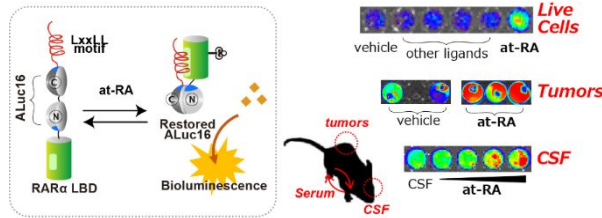


図7. レチノイン酸(at-RA)活性の可視化プローブの開発と応用。本プローブは、レチノイン酸依存的に発光するように設計されており(左)、癌組織内でのレチノイン酸活性に依存して発光することが観察できた。

### 免疫毒性物質の定量可視化用の BRET プローブの開発

これまで、**BRET** プローブは、蛍光蛋白質と発光酵素間の相対的な距離に違いに専ら依存するものであった。そのため、分子設計が難しく成功例も少なかった。

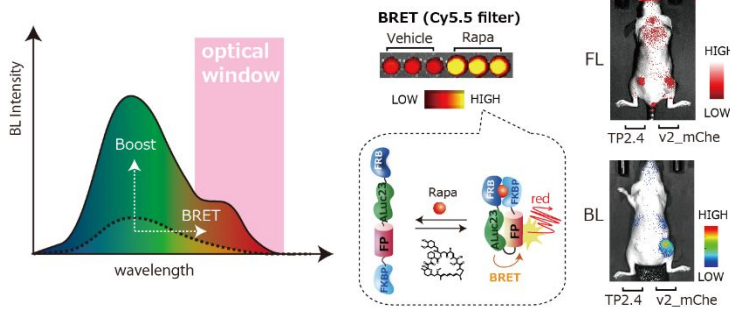


図8. **BRET9** 式発光プローブの開発と応用。本プローブは、免疫毒性物質依存的に、発光輝度が上昇し、同時に、**BRET** 現象が著しくなる独特な発光システムを有する。左：前述した2段構え式の発光プローブのスペクトル例。右：本**BRET9**プローブを有する癌細胞のリガンド特異的な発光イメージングの例。ここで赤は、蛍光イメージ、緑は発光イメージを示す。

本研究では、本研究者独自の分子歪みセンサー (**TP2.4**)の基本骨格に蛍光蛋白質 (**FP**) を繋げることにより、独特な発光スペクトルを示すイメージングプローブを創製できた。本プローブは、免疫毒性物質共存下で折りたたみ、発光輝度が増加するとともに、増加した発光輝度が隣接する **FP** に流れることにより **BRET** 現象が起こる独特な2段構えのプローブイメージングシステムで開発された。この

発光プローブをマウス個体の癌組織に導入することで、疾患部位が、免疫毒性物質依存的に発光することが観察できた(図8)。<Kim et al., Chem. Commun., 2020, 56, 281>

### 多チャンネル式光検出システムの開発と応用

本研究は、多数の化学物質サンプルの生理活性を評価する発光分析システムの開発と高度化に関するものである。既存の8チャンネル光検出システムの各チャンネル間では、感度がまちまちであるため、分析信号の信頼性確保のためにも、相互チャンネル間の感度調整が緊要であった。

本研究では、既存の8チャンネル光検出システムの内装とサンプルステージを改善するとともに(図9)、各チャンネル感度を標準化する独特なアルゴリズムを開発し、その有用性を実験により実証した。また本システムの有用性を実証するために、マウスの各臓器をチャンネルごとに並べ、それぞれの組織における癌転移を高速かつ高感度イメージングできた。<Kim et al., Photochem. Photobiol. Sci., 2020, 19, 524>

別途、装置開発に関する特許出願をし(特願 2020-044513)、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知財登録した(2020PRO-2460)。

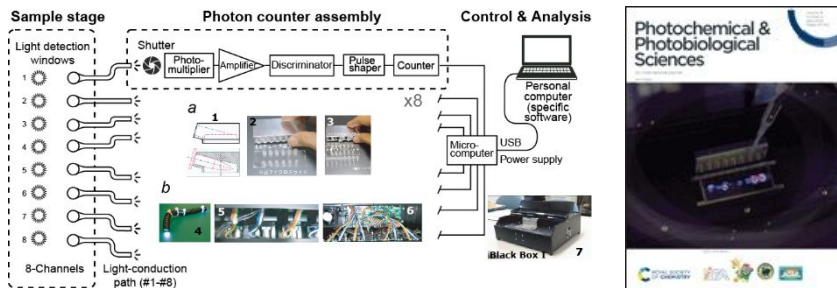


図9. 多チャンネル式光検出システムの開発と応用。左：本光検出システムの内部概要図。右：本研究成果の発表論文の表紙。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 22件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nishihara Ryo, Hoshino Emi, Kakudate Yoshiki, Kishigami Satoshi, Iwasawa Naoko, Sasaki Shin-ichi, Nakajima Takahiro, Sato Moritoshi, Nishiyama Shigeru, Citterio Daniel, Suzuki Koji, Kim Sung Bae (CA)	4. 巻 29
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 Kim Sung Bae, Fujii Rika, Nishihara Ryo, Bose Rajendran JC, Citterio Daniel, Suzuki Koji, Massoud Tarik F, Paulmurugan Ramasamy	4. 巻 21
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 A-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscobmsci.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 Nishihara Ryo, Paulmurugan Ramasamy, Nakajima Takahiro, Yamamoto Eiji, Natarajan Arutselvan, Afjei Rayhaneh, Hiruta Yuki, Iwasawa Naoko, Nishiyama Shigeru, Citterio Daniel, Sato Moritoshi, Kim Sung Bae (CA), Suzuki Koji (CA)	4. 巻 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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Abe Masahiro, Nishihara Ryo, Ikeda Yuma, Nakajima Takahiro, Sato Moritoshi, Iwasawa Naoko, Nishiyama Shigeru, Paulmurugan Ramasamy, Citterio Daniel, Kim Sung Bae (CA), Suzuki Koji (CA)	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	6. 最初と最後の頁 A-E
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/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 KIM Sung Bae, NISHIHARA Ryo, FUJII Rika, PAULMURUGAN Ramasamy, CITTERIO Daniel, SUZUKI Koji	4. 巻 35
2. 論文標題 <i>In vitro</i> 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) doi.org/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 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 Ryo Nishihara, Masahiro Abe, Shigeru Nishiyama, Daniel Citterio, Koji Suzuki, Sung Bae Kim	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 (Nature Publishing Group)	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 357-352
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 Sung Bae Kim, Ryo Nishihara, Daniel Citterio, Koji Suzuki	4. 巻 27
2. 論文標題 A Genetically Encoded Molecular Tension Probe for Tracing Protein-Protein Interactions in Mammalian Cells	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry (ACS)	6. 最初と最後の頁 354-362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.5b00421	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, Rika Fujii	4. 巻 65
2. 論文標題 Splitting-free Bioluminescence Imaging Probes and Their Applications (非分割型生物発光イメージングプローブの開発と応用)	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Bunseki Kagaku	6. 最初と最後の頁 361-369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.65.361	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 Kim Sung Bae, Fujii Rika	4. 巻 3
2. 論文標題 Fabrication of molecular tension probes	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 MethodsX	6. 最初と最後の頁 261 ~ 267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mex.2016.03.008	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, Takeaki Ozawa, Yoshio Umezawa	4. 巻 3
2. 論文標題 A genetically encoded bioluminescent indicator for illuminating proinflammatory cytokines	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 MethodsX	6. 最初と最後の頁 483-489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mex.2016.06.001	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, Rika Fujii	4. 巻 1461
2. 論文標題 How to Fabricate Functional Artificial Luciferases for Bioassays	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 43-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_4	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, Hiroaki Tao	4. 巻 1461
2. 論文標題 Single-chain probes for illuminating androgenicity of chemicals	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 143-151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_11	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, Yoshio Umezawa	4. 巻 1461
2. 論文標題 Multicolor Imaging of Bifacial Activities of Estrogens	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 153-163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_12	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, Hiroaki Tao	4. 巻 1461
2. 論文標題 Circular Permutation Probes for Illuminating Phosphorylation of Estrogen Receptor	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 165-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_13	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, Rika Fujii	4. 巻 1461
2. 論文標題 Fabrication of Molecular Strain Probes for Illuminating Protein-Protein Interactions	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 175-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_14	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, Ryo Nishihara, Koji Suzuki	4. 巻 1461
2. 論文標題 An ALuc-Based Molecular Tension Probe for Sensing Intramolecular Protein-Protein Interactions	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 183-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_15	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, Ryuichi Naganawa	4. 巻 1461
2. 論文標題 A Multichannel Bioluminescence Determination platform for Bioassays	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 271-278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_22	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, Ryuichi Naganawa, Shingo Murata, Takayoshi Nakayama, Simon Miller, Toshiya Senda	4. 巻 1461
2. 論文標題 A Bioluminescence Assay System for Imaging Metal Cationic Activities in Urban Aerosols	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Method in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 279-287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-3813-1_23	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 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
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 Kim Sung Bae, Hori Sharon Seiko, Sadeghipour Negar, Sukumar Uday Kumar, Fujii Rika, Massoud Tarik F., Paulmurugan Ramasamy	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 Photochemical & Photobiological Sciences	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 Bae Kim Sung, Fujii Rika, Natarajan Arutselvan, Massoud Tarik F., Paulmurugan Ramasamy	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 Chemical Communications	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

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Ramasamy Paulmurugan、金 誠培
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 (BRET) system
3. 学会等名 World Molecular Imaging Congress (WMIC) 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sung Bae Kim
2. 発表標題 Fabrication of artificial luciferases and their applications to molecular imaging
3. 学会等名 Royal Society of Chemistry (RSC) Tokyo International Conference 2016 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 金 誠培
2. 発表標題 ホルモン様化学物質の生理活性評価技術の開発と応用
3. 学会等名 InterAqua 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ryo Nishihara, Takahiro Nakajima, Sung-Bae Kim, Moritoshi Sato, Shigeru Nishiyama, Naoko Iwasawa, Daniel Citterio, Suzuki
2. 発表標題 Fabrication of Blue-Shifted Coelenterazine Derivatives for Bioluminescent Applications
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (ISBC2016) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Sung Bae Kim, Rika Fujii
2. 発表標題 Fabrication of Single-Chain Bioluminescent Probes from Artificial Luciferases
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (ISBC2016) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年



1. 発表者名 金 誠培, 西原 諒, 佐藤 守俊, Daniel Citterio, 鈴木 孝治, Ramasamy Paulmurugan
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, Daniel Citterio, 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, Ramasamy Paulmurugan, Daniel Citterio, 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, Daniel Citterio, 鈴木 孝治, Ramasamy Paulmurugan
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, Ramasamy Paulmurugan
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

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kim, Sung-Bae (Ed.)	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Springer-Humana Press	5. 総ページ数 XIII, 314
3. 書名 Bioluminescence	

〔出願〕 計5件

産業財産権の名称 新規セレンテラジン化合物及びその用途	発明者 金誠培、鈴木孝治、 チッテリオダニエル、 西原諒、佐藤守	権利者 産業技術総合研 究所
産業財産権の種類、番号 特許、US 15/92620	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 新規人工生物発光酵素群	発明者 金 誠培	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2016/07960	出願年 2016年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 新規セレンテラジン化合物及びその用途	発明者 鈴木, チッテリオ, 西原, 金 誠培, 佐藤, 中嶋	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2017-055985	出願年 2017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	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

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 金誠培牧昌次郎、北田昇雄	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2020-040703	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計3件

産業財産権の名称 人工生物発光酵素	発明者 金誠培、鳥村政基、 田尾博明、中里哲也	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、ZL201380056095.	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 人工生物発光酵素に用いるための発光基質	発明者 金誠培、和泉博、田尾博明、鳥村政基、 脇坂昭弘	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、US 1021476	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 新規セレンテラジン化合物及びその用途	発明者 金誠培、鈴木孝治、 チッテリオダニエル、 西原諒、佐藤守	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、US 1023988	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

人工生物発光酵素 (ALuc(R)) に選択的に発光する基質を開発 <a href="https://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/2017/nr20171211/nr20171211.html">https://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/2017/nr20171211/nr20171211.html</a>		
--	--	--

## 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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	パウルムルガン ラマサミ  (Paulmurugan Ramasamy)	スタンフォード大学・医学部・准教授	Canary center, Stanford School of Medicine