



# ホタル生物発光型長波長発光材料 の創製と実用化

科学に学び技術を創る！！

電気通信大学大学院 情報理工学研究科  
先進理工学専攻 牧 昌次郎



街路樹を自在かつ多彩に発光！  
環境にも優しい「未来の光」！

**生物機能のモデル化だから  
実現したい未来があります！**



# 1. この研究の要約

F&Q

通常は560nmの黄色い光です

## 1. この研究を一言で説明してください

本研究は、ホタルの生物発光機構をモデルとして、発光基質という低分子有機化合物の類縁体を各種人工合成し、多彩な発光色を創り、そのうち**650nmを超える長波長(675nm)の材料を市販した**。さらにこの**水溶性化を達成し、700nmの長波長材料を創製した**。

## 2. 何に使うのですか？

現在は、**腫瘍学や再生医療**などの分野での利用が進められています。

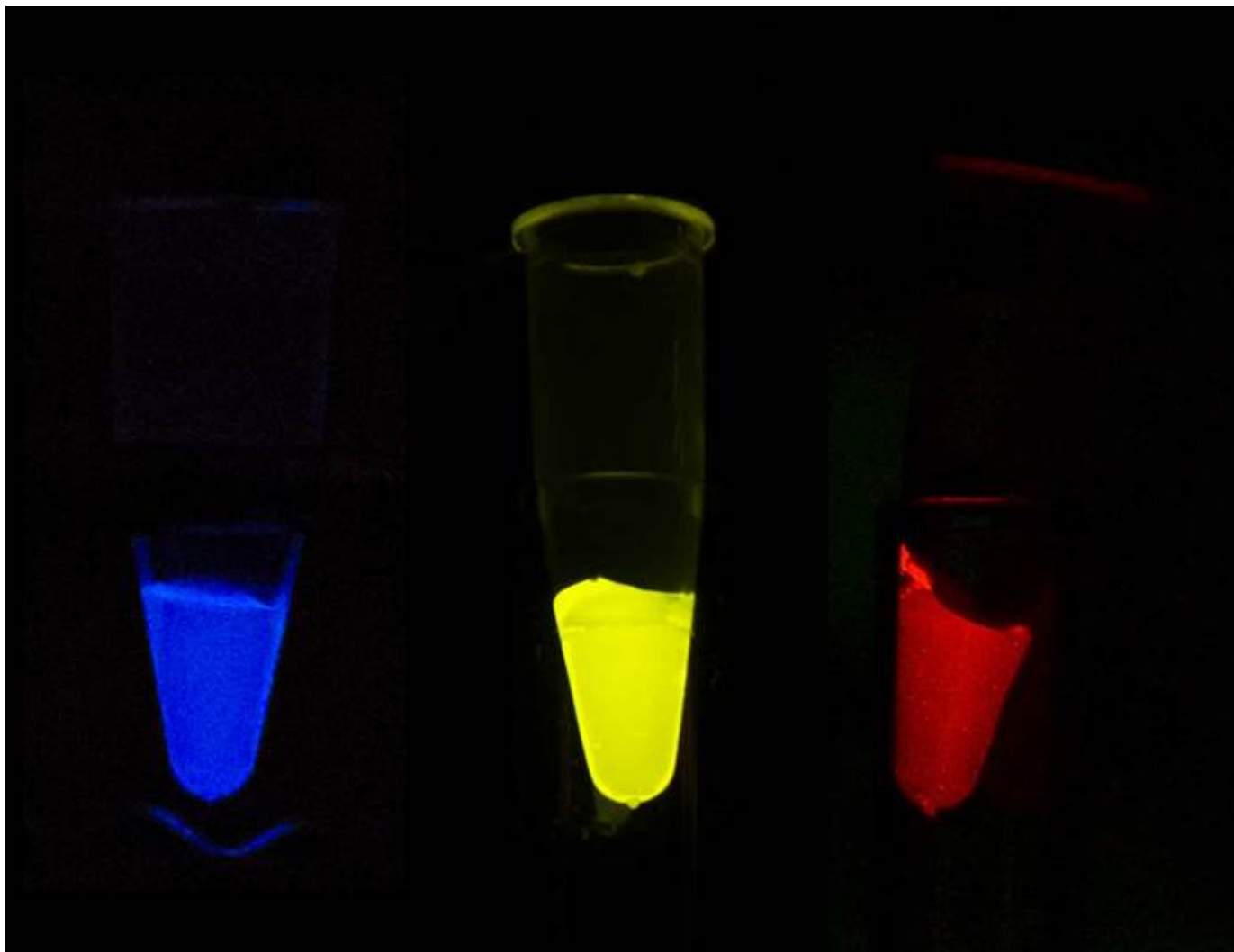
## 3. 世界的な位置づけはどのようなのですか？

現在、**市販されている材料**としては、世界最長波長で**世界最先端かつNo1の技術**です。

2番じゃいけないんですか？ 2番じゃ！

**医療技術で2番を望む人はいないので、1番が必要です。**





電気通信大学  
のオリジナル技  
術だぜ！



発光基質アナログと天然北米産ホタルの発光酵素で  
RGB（赤，黄緑，青）を世界で初めて実現しました

世界中でここでし  
か見られない写  
真じゃ！！



# 3. 太古の光

電気が発明される以前

火を使うずっと前からあった光  
太陽、月、星

それは

## 生物発光

そして**生物が燈す光**★

人類が最初に目にした**生命体**が作った光を  
**科学技術で創りたい!**

マルチカラー&高輝度発光システムとして

ホタル生物発光系をモデル化した

## マルチカラー

## 人工発光系の創成

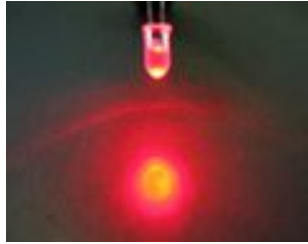
自由自在に、いろんな場所で!

いろんな色で、もっと明るく!



鳥に憧れて、飛行機やロケットも  
作れたんだからきっとできるはず!

# 4. 発光効率比較例



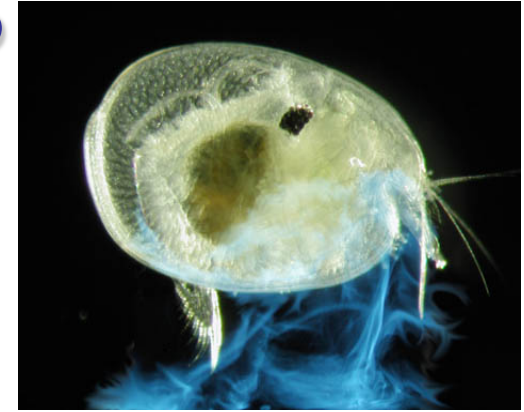
70~80% ホタル

(アメリカ産ホタル *Photinus Pyralis*)

30%

発光ダイオード  
(Al<sub>0.28</sub>Ga<sub>0.72</sub>As (赤))

「光デバイス」, オーム社 (2001) より.



ウミホタル  
(日本産 *Vargula*)



7%

88% (41%)

10~20%

~0.04%

有機EL素子

「有機EL素子とその工業化最前線」  
宮田清蔵 監修, エヌ・ティー・エス (1998)  
より.



電球・蛍光灯  
(消費電力比)



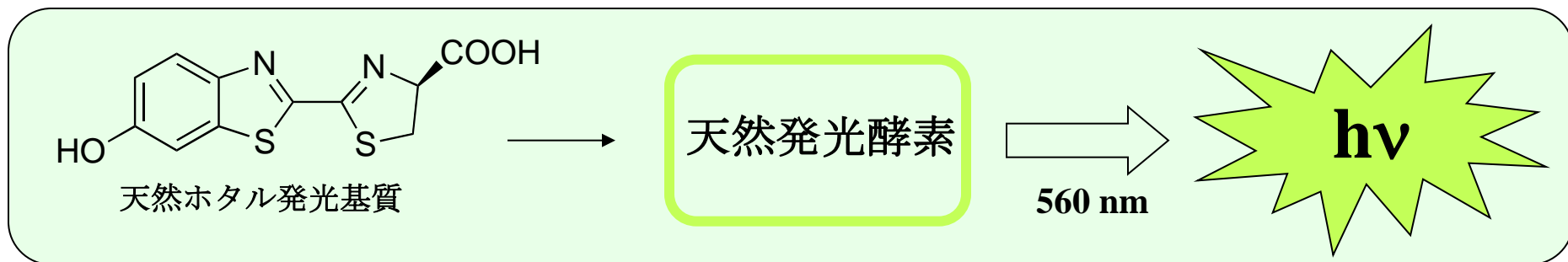
ケミカルライト

# 5. 背景とニーズ

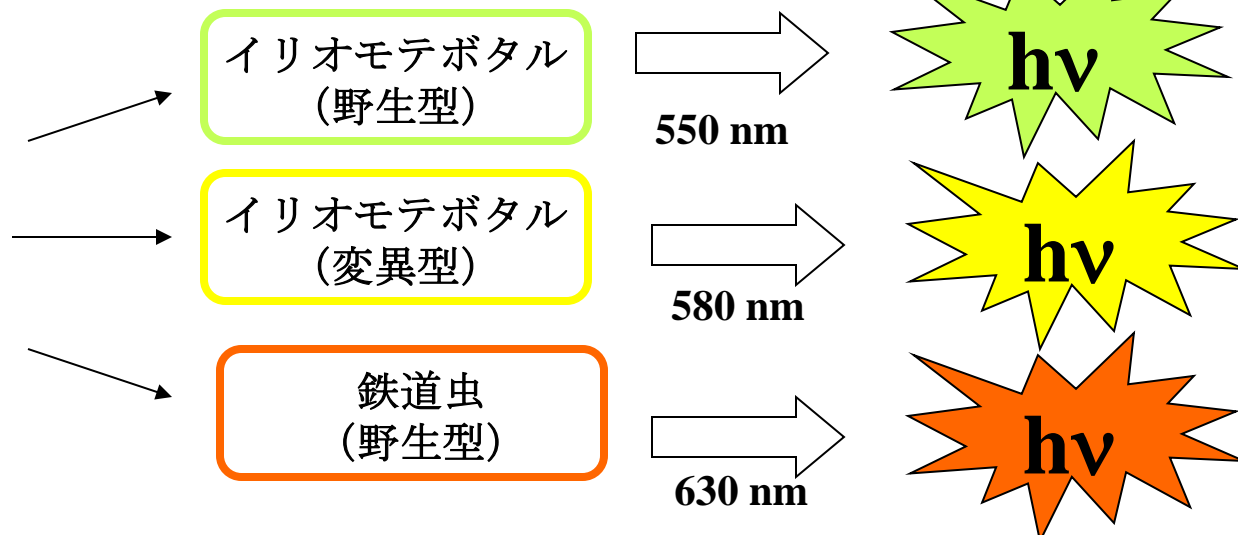
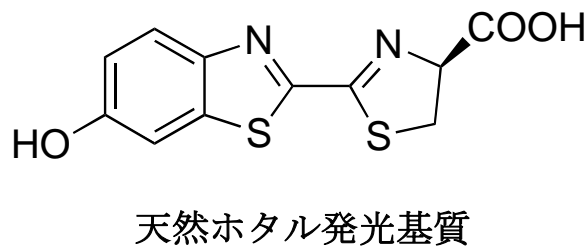
ホタルの発光効率には地上最高といわれ、ミクロの学術研究レベルから排水検査などのマクロ使用まで、様々なシーンで利用されている。

また可視化対象の拡大や測定機器の急成長により、「多色発光」へのニーズが急速に高まっていると同時に、種々の課題も指摘されている。

- ➡ 1. 高感度な発光基質
- ➡ 2. 発光基質の低価格化
- ➡ 3. 多彩な発光色の提供
- ➡ 4. 複雑な知財権からの解放

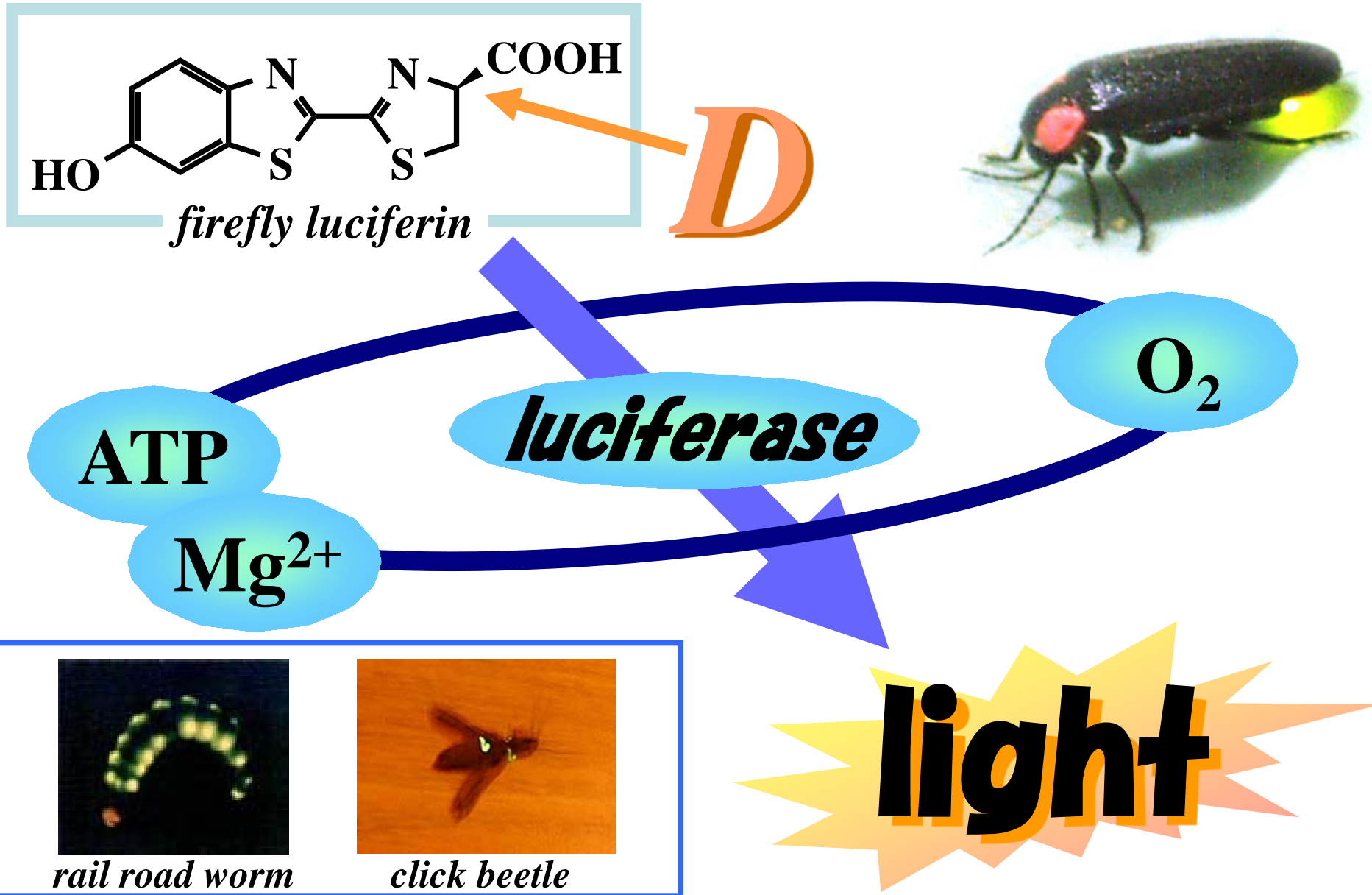


**Tripluc™**

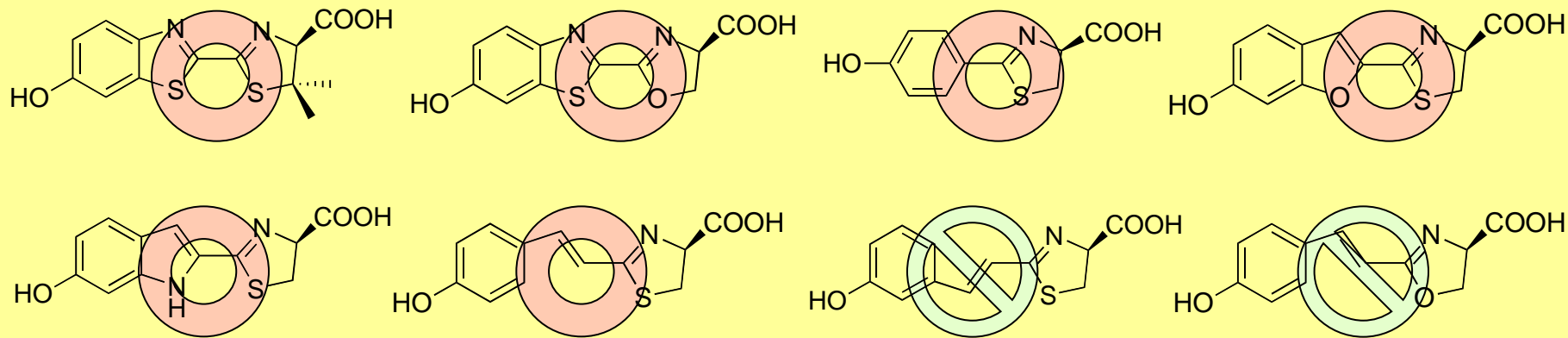




# 6. Luciferin-Luciferase Reaction



# 7. 基質アナログの発光活性と構造活性相関

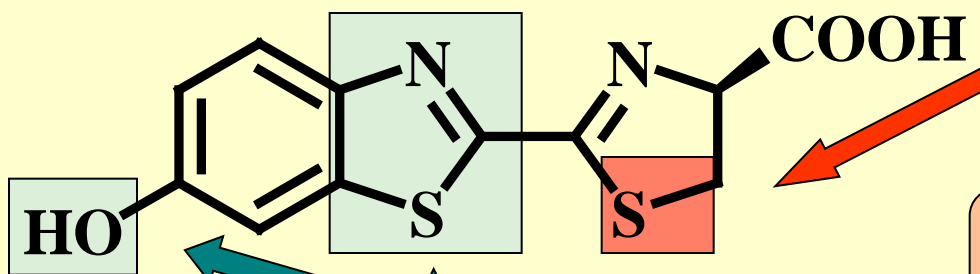


30種類以上

特開2006-219381

位置により  
活性に影響

発光活性に  
大きく影響



ルシフェラーゼの認識に関与？

修飾可能部位

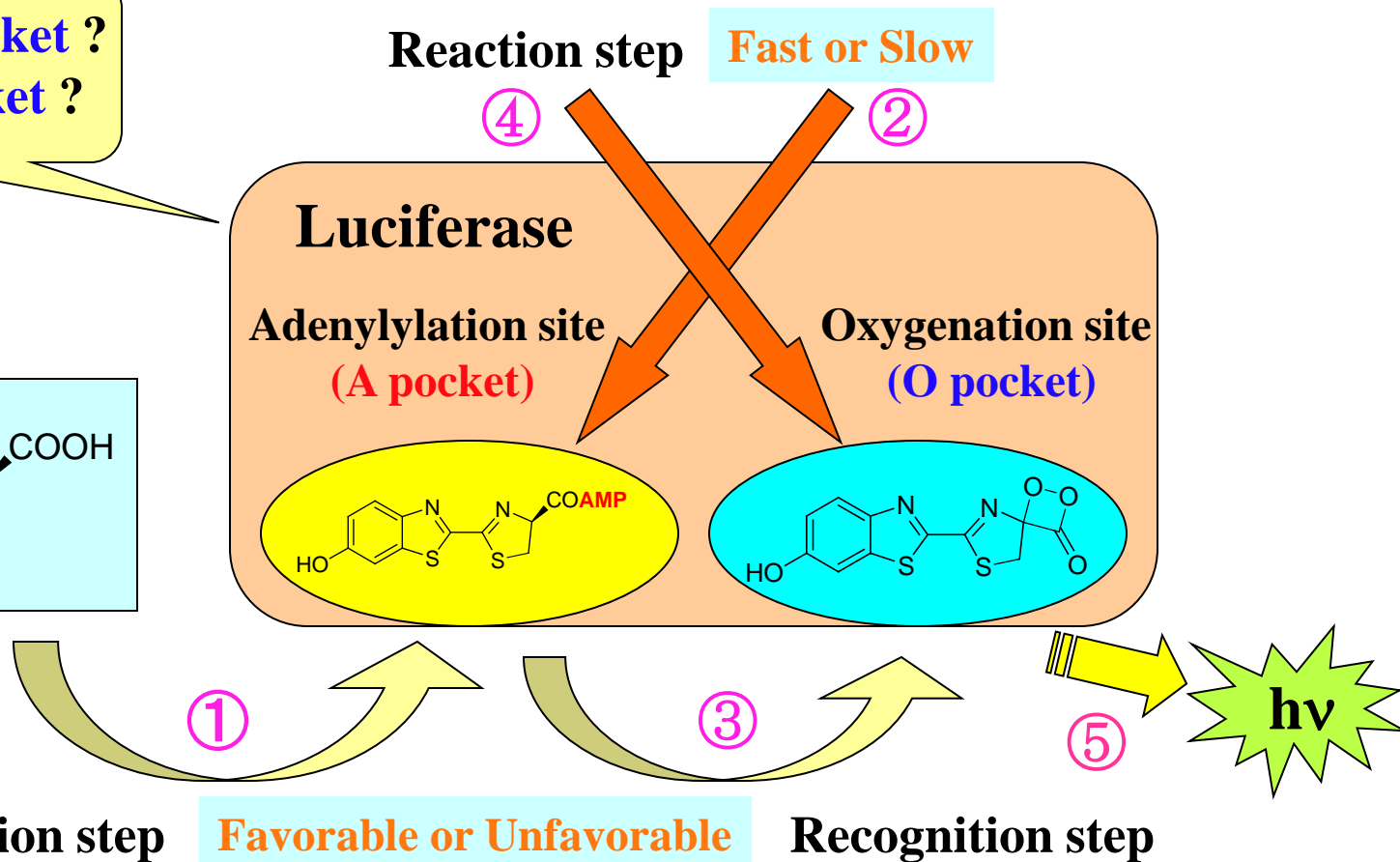
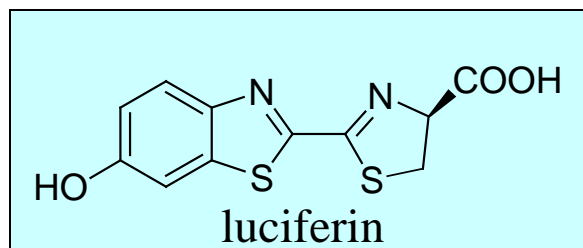
ルシフェラーゼの  
認識に影響？

どの程度変換・簡素化が可能か



# 8. 発光酵素の機能解析

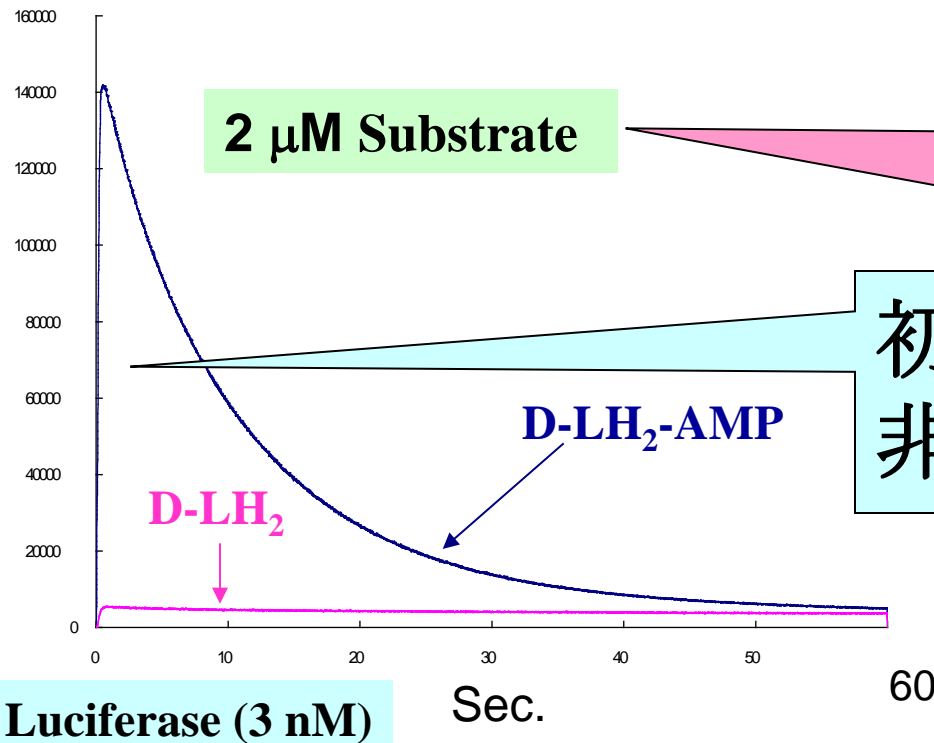
A pocket = O pocket ?  
A pocket ≠ O pocket ?



ホタル発光反応は1段階反応のように観測される！

2つの機能のどちらかが『律速段階』である

# 9. D-LH<sub>2</sub>とD-LH<sub>2</sub>-AMPの比発光活性



同濃度における  
顕著な発光活性の増強

初期の発光強度は約30倍  
非常に早い立ち上がり！

発光波長( $\lambda_{\max}$ )は同じ

律速段階はAMP化段階(A pocket)

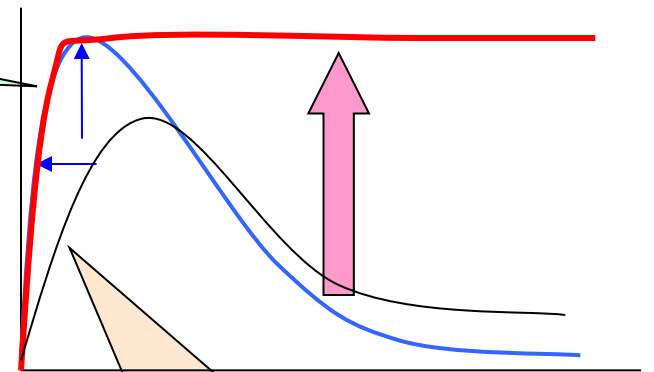
特願2006-086175, WO2007/116687

# 10. 標識材料化への課題

ホタル生物発光系は  
フラッシュ発光する  
(右図中；黒線)

計測機器に適する標識材料の条件

1. 早い立ち上がり
2. 定常化発光



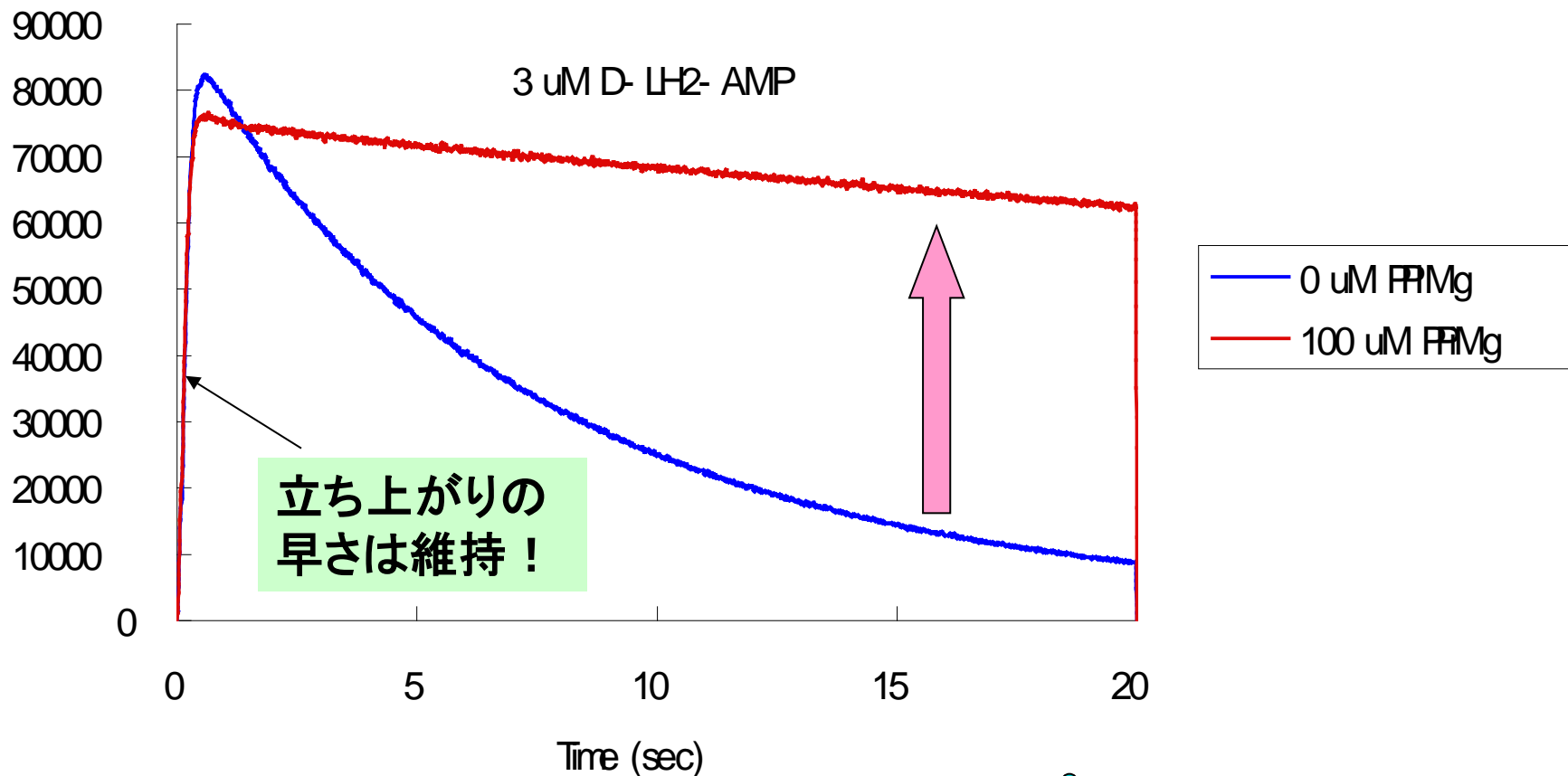
計測機器に使用する  
標識材料としては不適

フラッシュ発光をフラット発光にする

フラッシュ発光の原因は発光酵素の失活

発光酵素のターンオーバー向上技術の開発が必要

# 11. D-LH<sub>2</sub>-AMPのPPi添加による発光の定常化

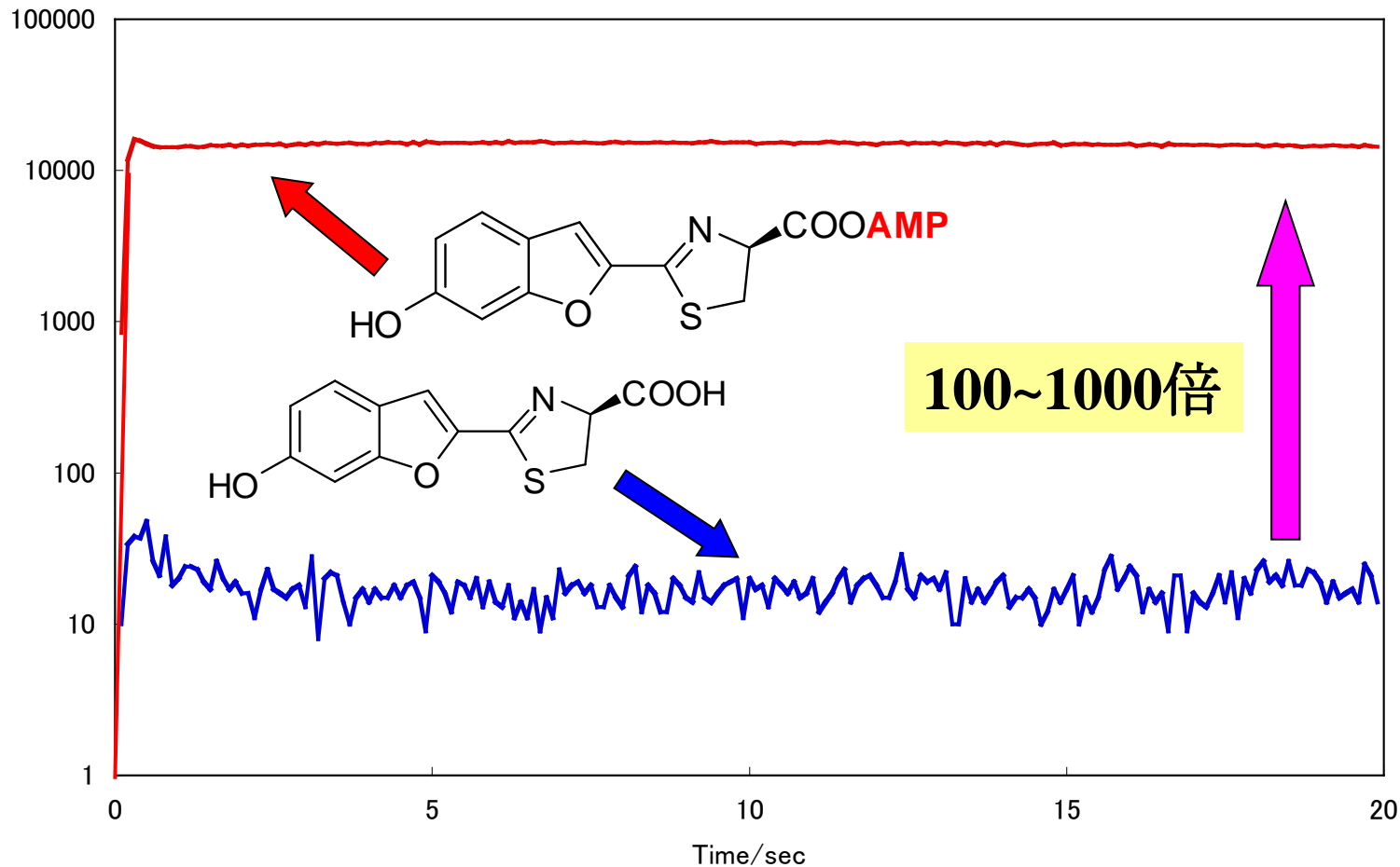


発光活性は5倍程度向上！

特願2006-086175,  
WO2007/116687

「定常発光化技術」とは、  
発光酵素の「ターンオーバー向上技術」である！

## 12. アナログに対する発光活性の向上



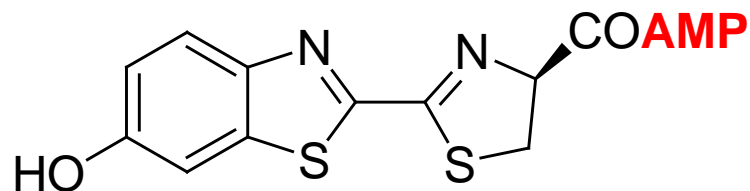
アナログにも発光活性向上技術は効果的

# 13. Effect of Emission Enhancing Technology (EET)

Totally ~150 fold

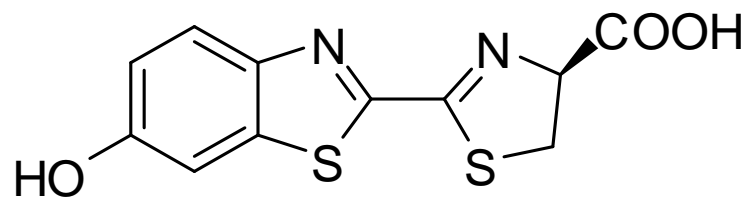
PPI

5~10 fold

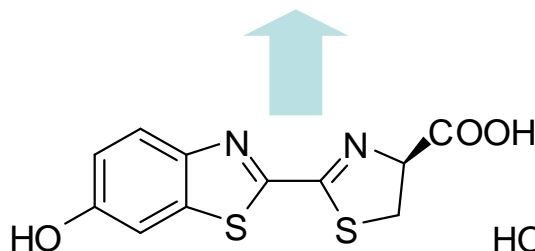
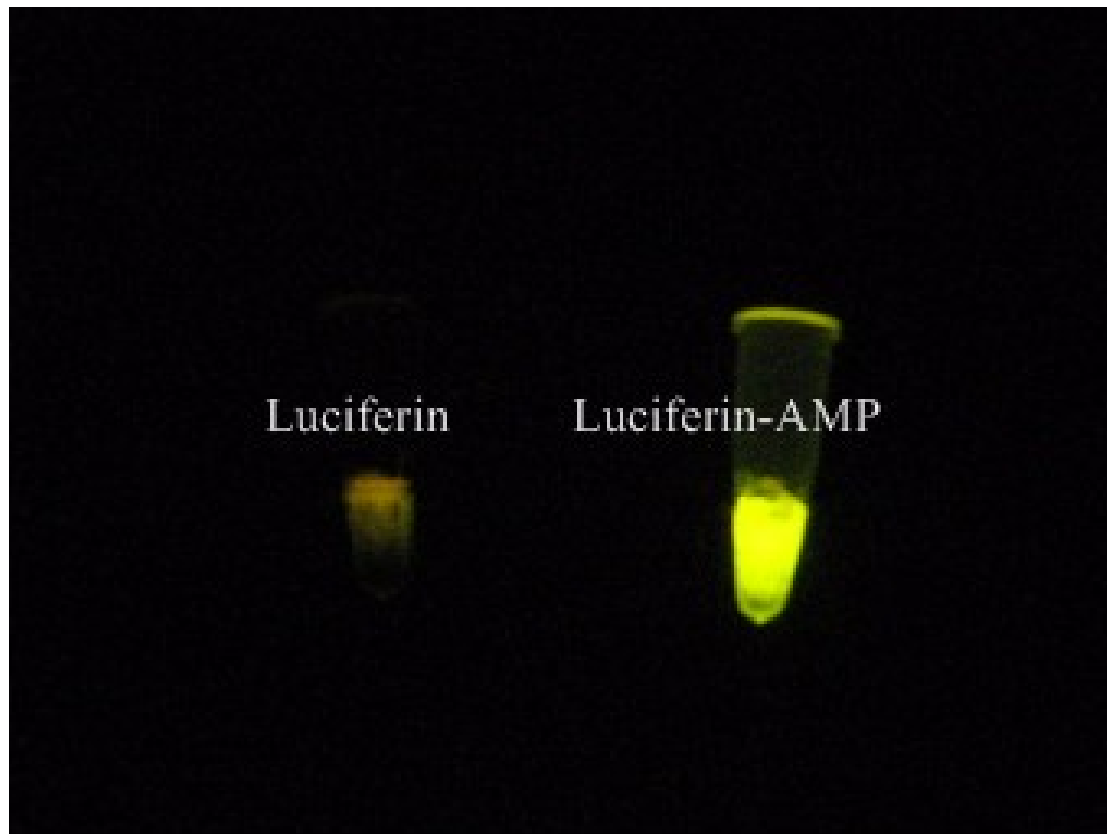


AMP

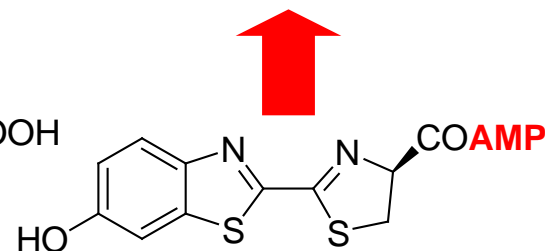
20~30 fold



WO2007/116687



original



activated

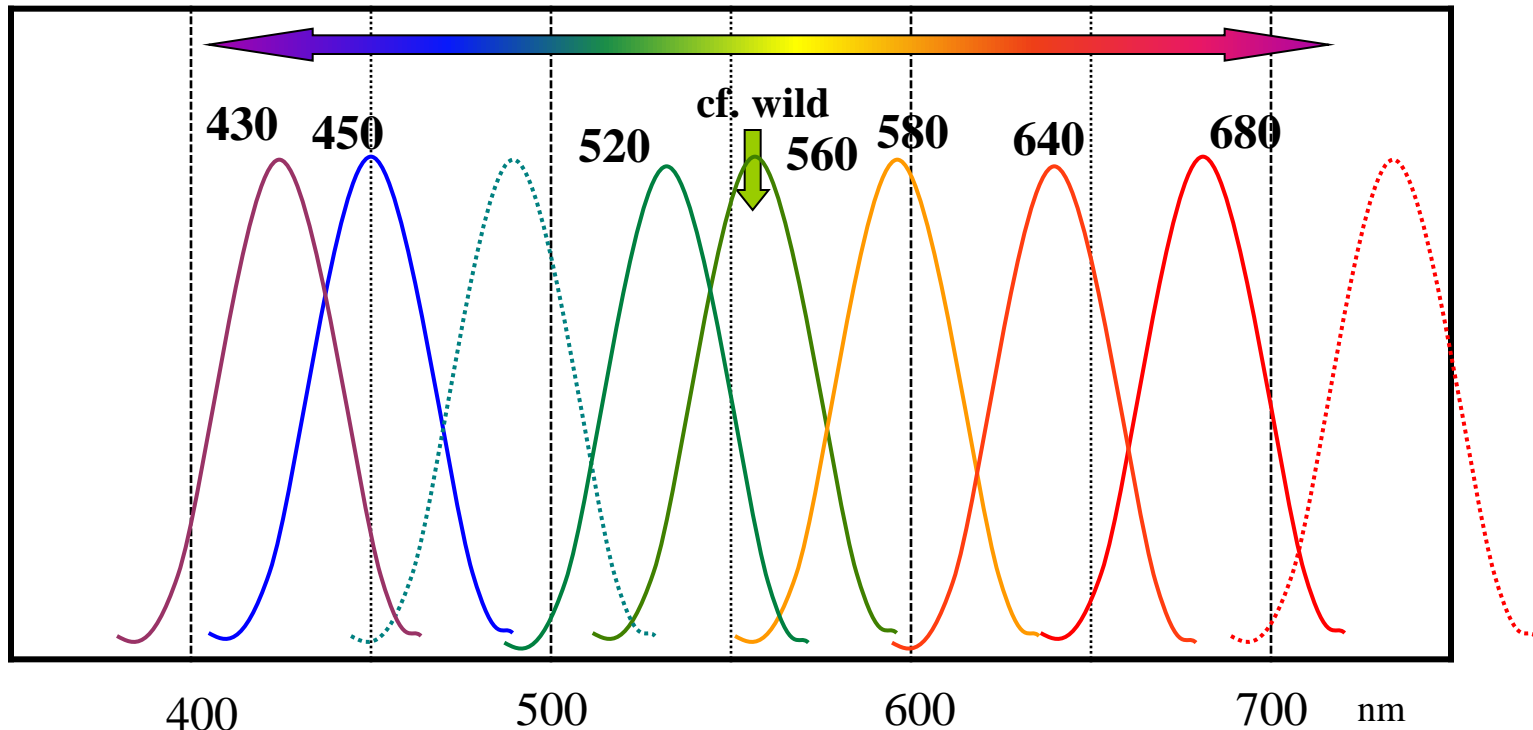


# 14. 基質アナログによる発光波長

ほぼ

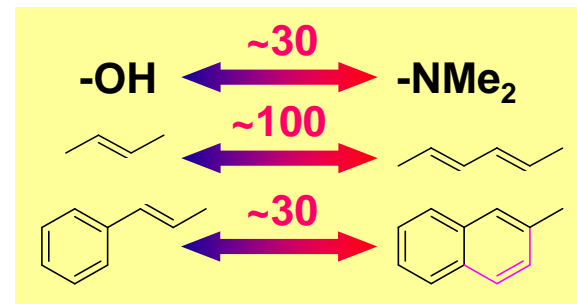
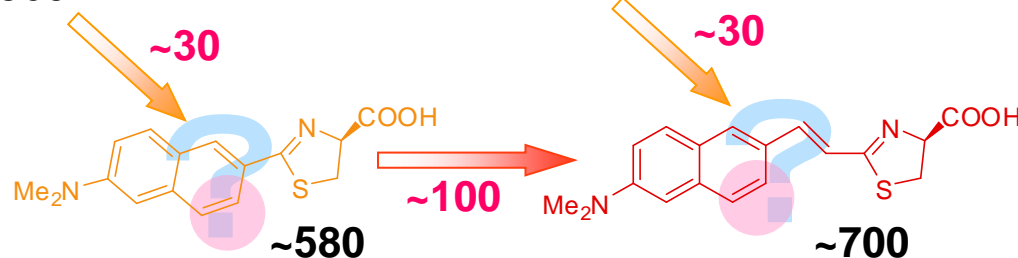
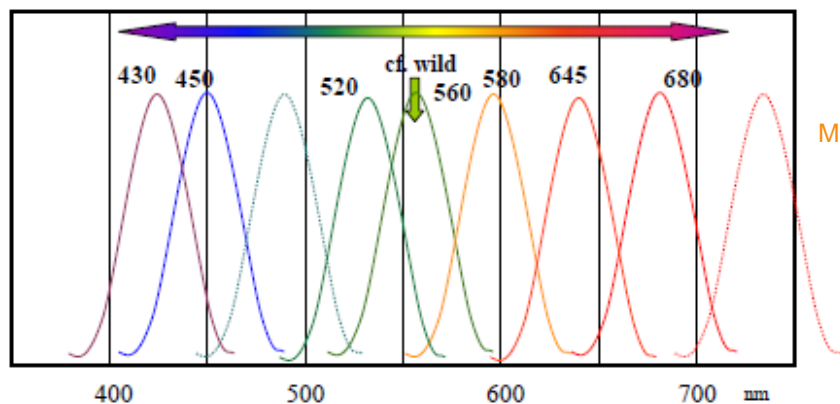
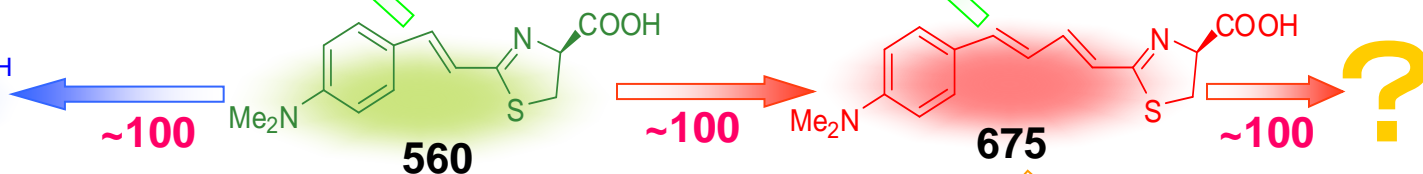
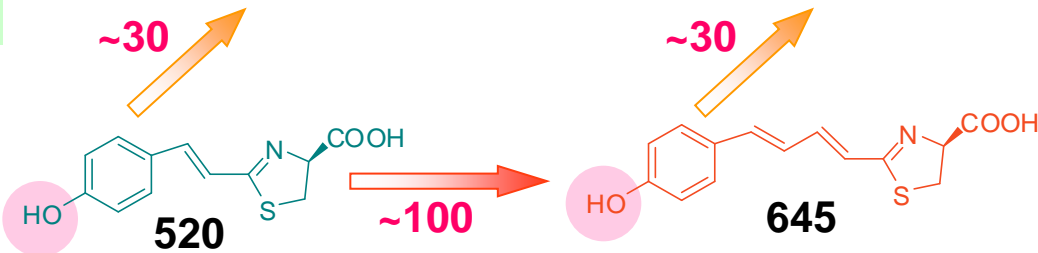
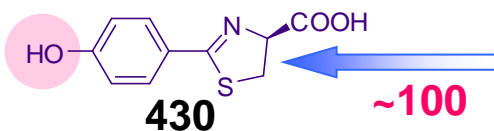
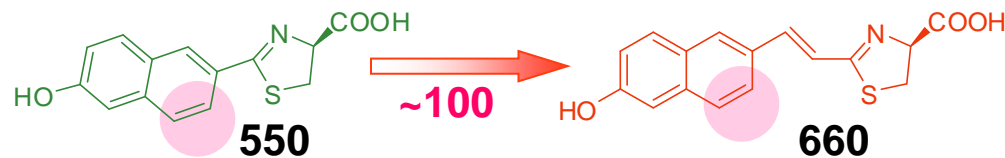
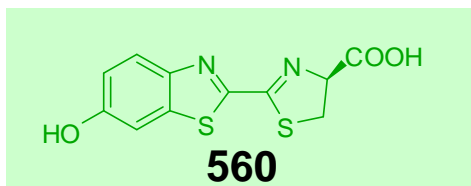
全て基質アナログで

可視光領域を網羅する多彩な発光波長を実現しました！



波長変換域、基質アナログとも世界初！

# 15. 多色基質デザインと指標

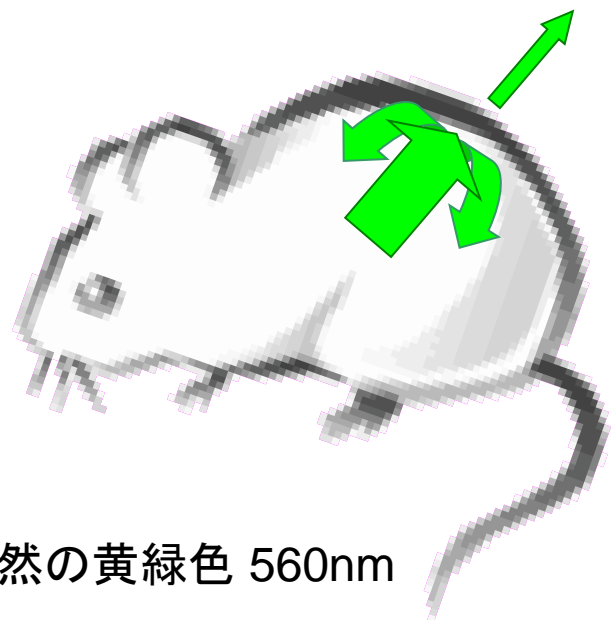


WO2010/106896

# 16. 赤色発光材料の利点

よくみえないな

すごくみえるぞ！



天然の黄緑色 560nm

輝度が高くても透過光は少なくなる

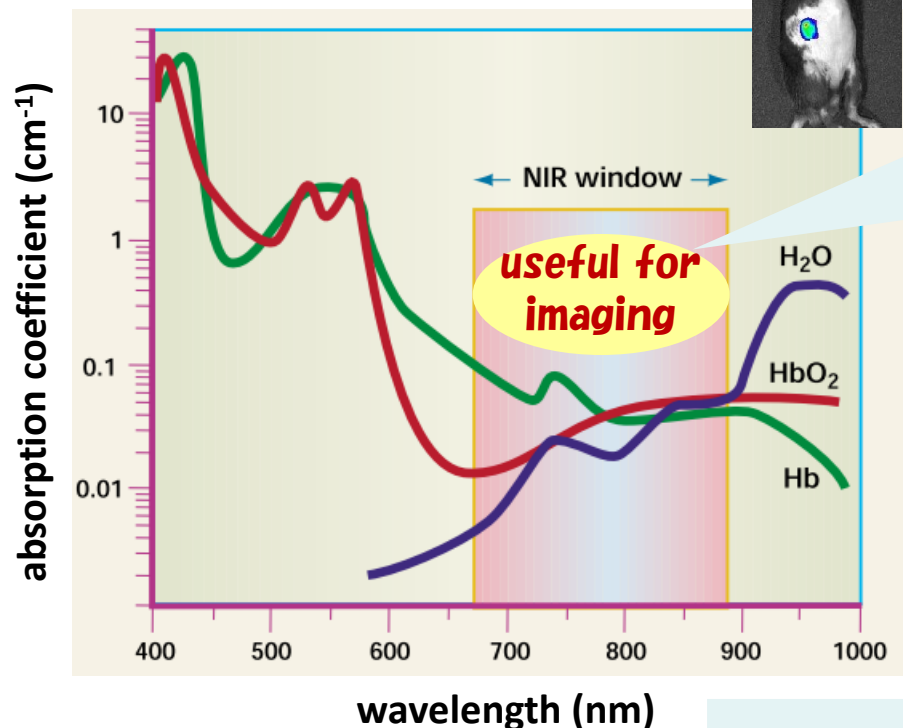
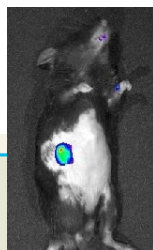


人工の近赤外 675nm

輝度は低くても透過光は大きい

# 17. 赤色発光の実用性

・ 生体の窓

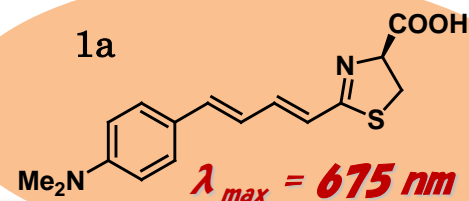


**650 ~ 900 nm**  
深部の分子イメージングが可能

アジア最大のバイオイベント  
第9回 **国際バイオEXPO**  
併催 バイオテクノロジー国際会議

**蛍光標識材料** のものが主流  
励起光が必要

自発発光材料の例は極めて少ない



商品として世に送り出すことで  
本学発の最先端技術として認知してもらおう

# 18. アカルミネ

驚きの発光波長を実現!!  
発光波長670~680nm

## アカルミネ™

近赤外発光ルシフェリンアナログ

### 特長

- ◆ 近赤外発光基質
- ◆ 発光波長 670~680nm
- ◆ 水・ヘモグロビンの吸収を受けにくい
- ◆ *In vivo*イメージングに最適

### *in vivo*イメージングデータ

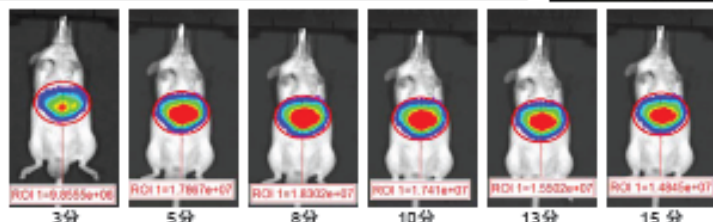
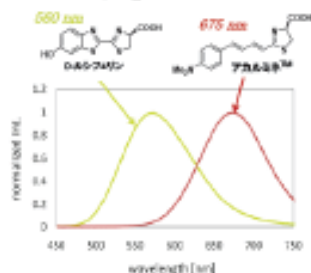


図. アカルミネ™投与後、3分、5分、8分、10分、13分、15分の撮影像  
ルシフェラーゼを肝臓で発現させたマウスにアカルミネ1mgをDMSO 50  $\mu$ lで溶解後、PBS (Ca不含) 1mlで希釈し、少量をマウスに腹腔内投与した。

データ提供先: 筑波大学代謝内科 武内先生

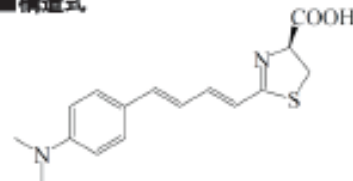
### 製品情報

驚きの発光波長を実現!!



\*Fluorescence spectra of DsRed-FM and AcLuciferase.

### 構造式



$C_{26}H_{38}N_2O_2 = 302.39$

### 溶解性

水・50mM 昇酸カリウム緩衝液(pH 6.0)  
\*\*\*\*\*500  $\mu$  mol/l

### 【関連製品】

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
127-03941	D-ルシフェリン	生化学用	5mg	10,500
123-03943			50mg	64,000
126-05111	D-ルシフェリンカリウム	分子生物学用	10mg	9,000
122-05113			25mg	17,000
120-05114			100mg	51,000
126-05116			1g	照会
120-03953	D-ルシフェリンナトリウム	生化学用	2mg	5,000
124-03951			5mg	10,500
128-03954			10mg	18,600
124-03956			50mg	69,000
123-05481	D-ルシフェリンナトリウム-水和物	分子生物学用	100mg	87,000
129-05483			1g	照会
123-03921	ルシフェラーゼ-ルシフェリン、凍結乾燥品	生化学用	100mg	17,800



### 【参考文献】

1. 牧 昌次郎: 光学, 39 (7), 320 (2010)
2. Tromberg, B. J., Shah, M., Lanning, R., Cerussi, A., Espinosa, J., Phan, T., Svendsen, L. and Butler, J.: *Neoplasia*, 2, 26 (2000)
3. Weissleder, R.: *Nat. Biotechnol.*, 19, 316, (2001)

掲載されている製品は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとして使用できません。  
記載希望納入価格は本邦価格であり、消費税などが含まれておりません。

### 和光純薬工業株式会社

本社 0466-8000 大塚中核医薬部 03-5711-8024 東京支店 03-5700-1100 03-5700-1101  
支店 03-1003 03-5700-1102 03-5700-1103 03-5700-1104 03-5700-1105 03-5700-1106 03-5700-1107 03-5700-1108 03-5700-1109 03-5700-1110  
●大塚営業部 03(5700)1000-311 ●中核営業部 03(5700)4281-141  
●東京営業部 03(5700)1100-311 ●横浜営業部 03(5700)4276-141  
●名古屋営業部 03(5222)2072-311 ●北陸営業部 03(1127)4286-141  
●関西営業部 03(5466)29430-311  
E-mail: [info@wako-chem.co.jp](mailto:info@wako-chem.co.jp)  
URL: <http://www.wako-chem.co.jp>  
フリーダイヤル: 0120-052-039 フリーファックス: 0120-052-808

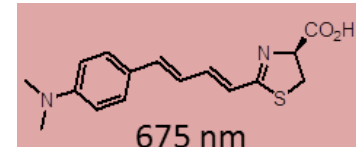
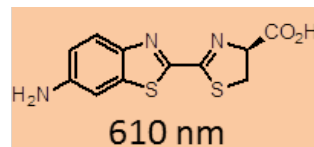
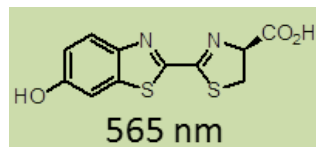
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
017-23691	アカルミネ™	生化学用	1mg	20,000
013-23693			3mg	80,000



# 19. 生体透過比率

長波長発光材料は良く透過してくるぞ！！

1 cm 血肉フィルターを用いた実験

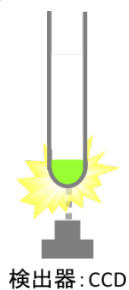
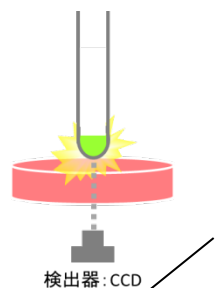
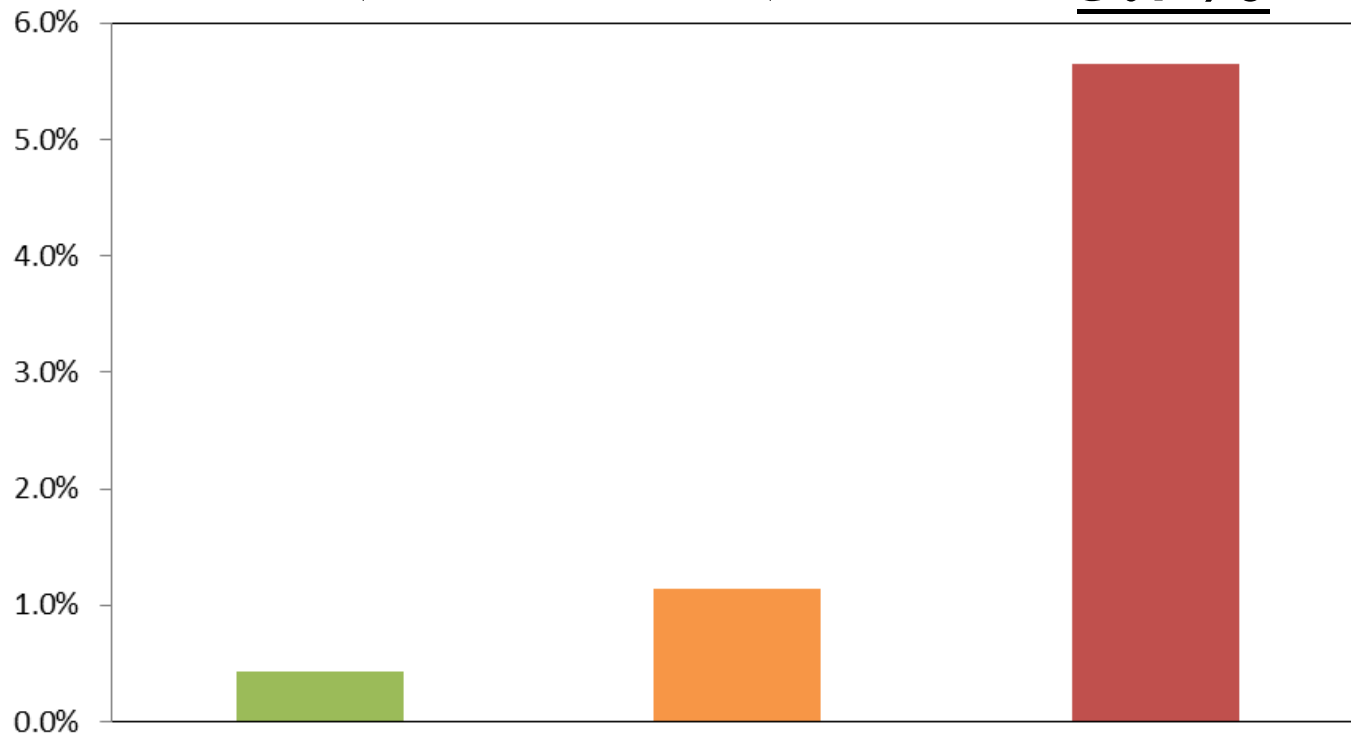


0.4%

1.1%

5.7%

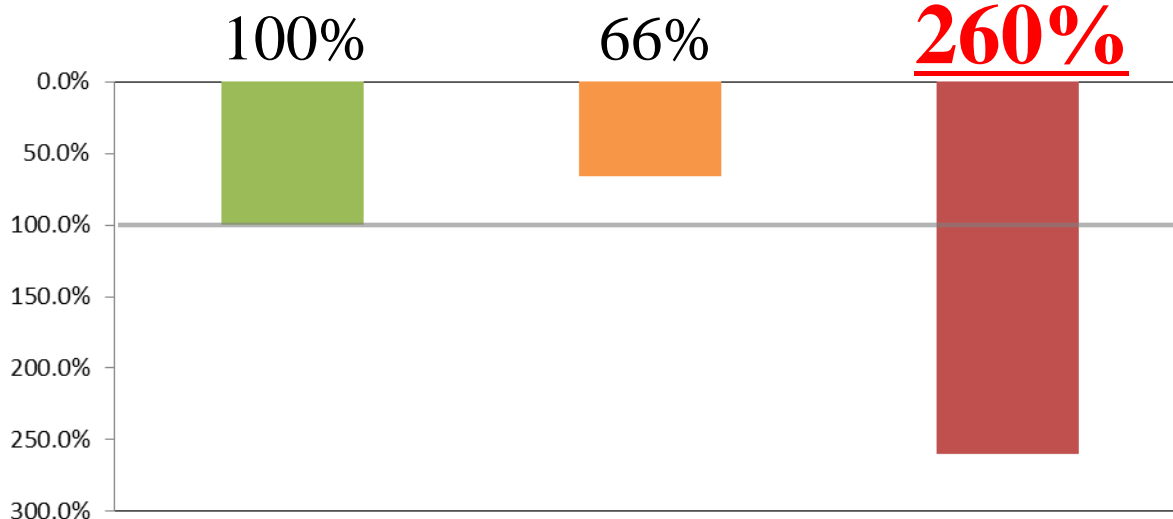
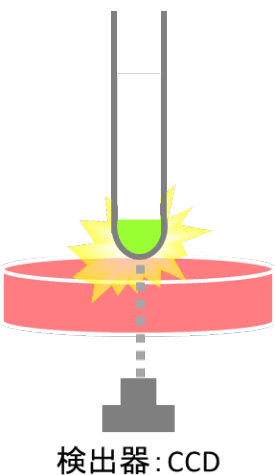
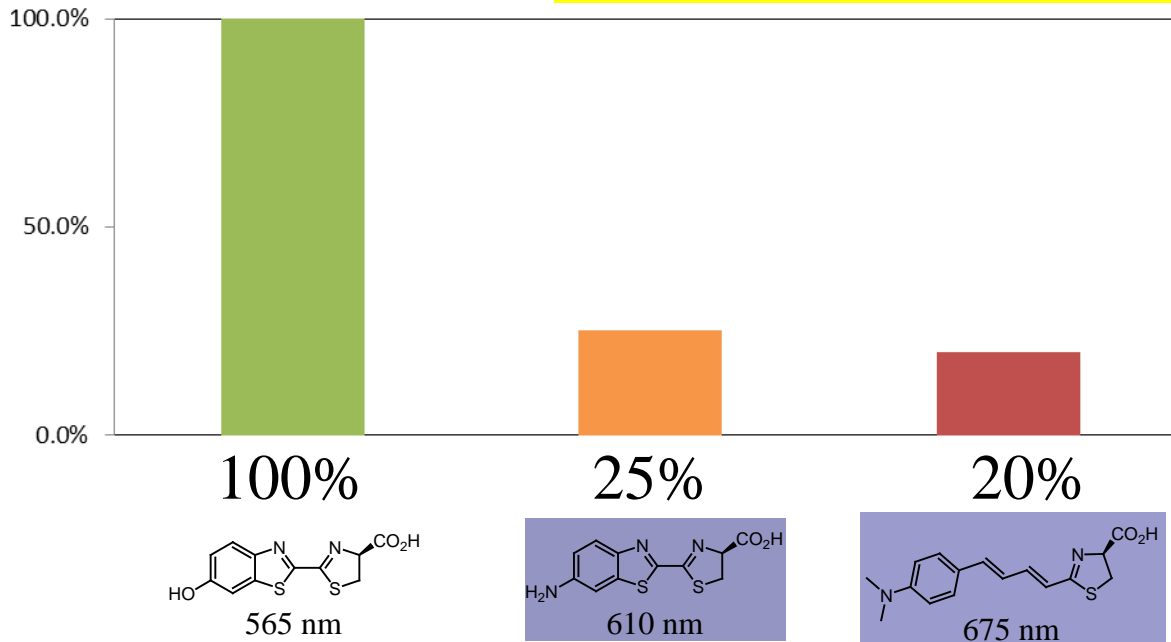
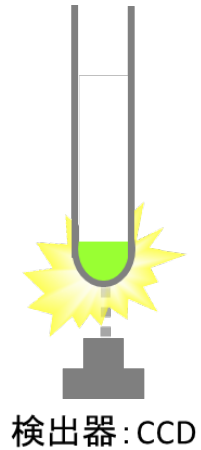
生体透過比率





# 20. 相対強度

## 1 cm 血肉フィルターを用いた実験

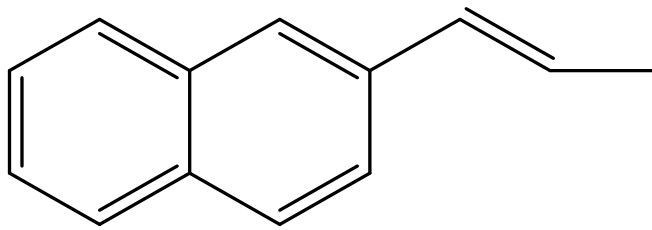


長波長発光材料の生体内透過性は、抜群です。

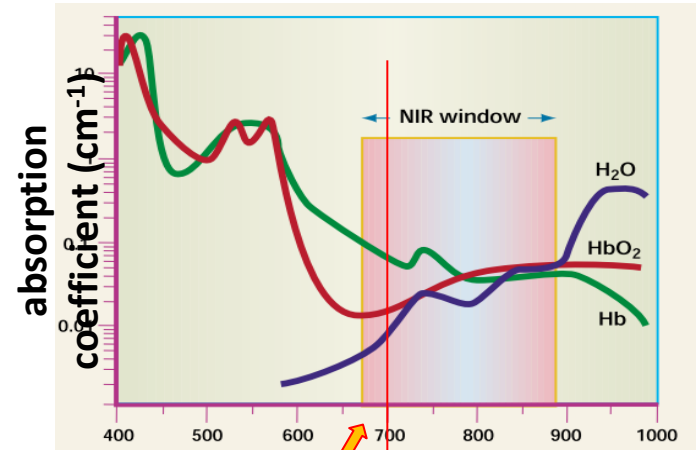


# 21.新規長波長材料

アカルミネは**生体の窓の入り口**に過ぎないが、**入り口付近は狙いどころ**



Uec 700  
(Oniaka)



675 nm

700 nm

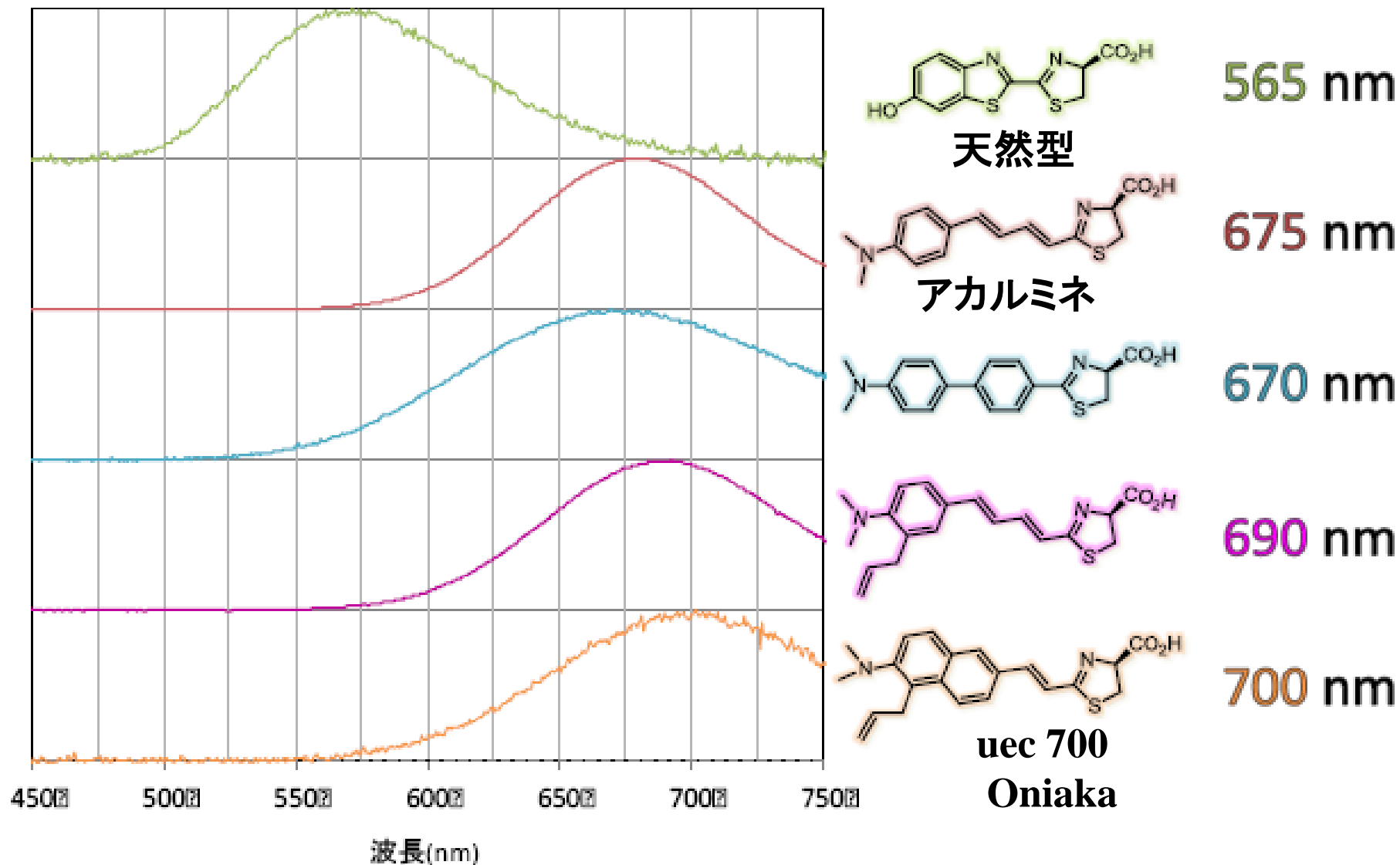
アカルミネ<sup>®</sup>

Oniaka

「生体の窓」の入り口で**発光する材料**は**総合的に優れた材料**です。



# 22. 長波長発光材料一覧

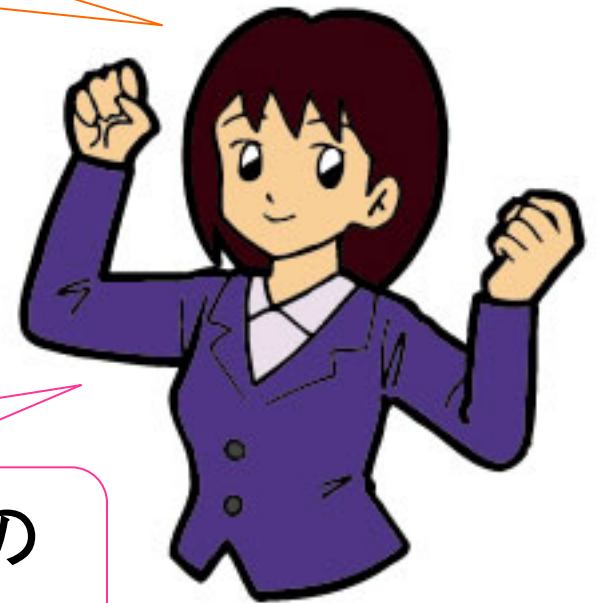


## 23. 次世代材料に向けて

高輝度かつ水溶性のuec700はないのか



癌や再生医療の研究に  
最適な標識材料です



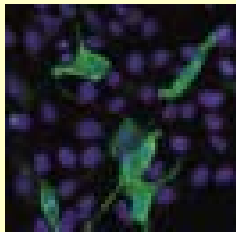
インビボイメージング機器企業さんとの  
タイアップ開発を希望しています！

# 24. 関連特許一覧

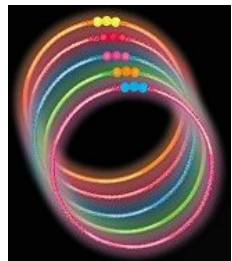
1. 特開 2006-219381 「複素環化合物及び発光甲虫ルシフェラーゼ発光系用発光基質」  
発明者：丹羽 治樹、牧 昌次郎、平野 誉  
出願人：国立大学法人 電気通信大学（特願2005-031574） 出願日：2006年8月24日
2. W02007/116687 「複素環化合物及び発光方法」  
発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹、平野 誉  
出願人：国立大学法人 電気通信大学（PCT/JP2007/056227）出願日：2006年3月27日
3. W02009/096197, US2011/033878A1 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹  
出願人：国立大学法人 電気通信大学（PCT/JP2009/000376） 出願日：2009年2月 2日
4. 特開 2010-180191 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹  
出願人：国立大学法人 電気通信大学（特願2009-027654） 出願日：2009年 2月 9日
5. W02010/106896 「波長が制御されたルシフェラーゼの発光基質および製造方法」  
発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹。  
出願人：国立大学法人 電気通信大学（PCT/JP2010/053177） 出願日：2009年 3月17日
6. 特願2011-182224 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：西山 繁、斎藤 毅、牧 昌次郎、丹羽 治樹  
出願人：国立大学法人 電気通信大学 出願日：2011年 8月24日
7. 特願2012-049619 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：牧 昌次郎、丹羽 治樹  
出願人：国立大学法人 電気通信大学 出願日：2012年 3月 6日
8. US2011/033878A1 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：牧 昌次郎、小島 哲、丹羽 治樹。  
出願人：国立大学法人 電気通信大学 出願日：2009年 2月 2日
9. 特願2011-182224 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：西山 繁、斎藤 毅、牧 昌次郎、丹羽 治樹。  
出願人：国立大学法人 電気通信大学 出願日2011年 8月24日
10. 特願2012-049619 「ルシフェラーゼの発光基質」  
発明者：牧 昌次郎、丹羽 治樹。  
出願人：国立大学法人 電気通信大学 出願日2012年 3月6日

**複合利用も実現しました！**

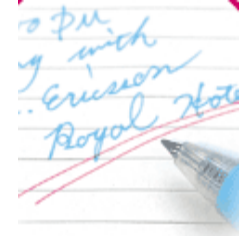




イメージング用プローブ



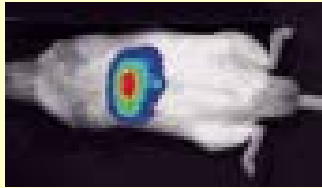
バイオライト  
(ケミカルライトの代替品)



発光ペン



ボディペイント



生体内患部  
深部モニタ用  
赤色プローブ

医療衛生用検査診断薬

ホビー・レジャー

マルチカラー発光が創る  
新技術・新商品



非破壊検査  
内部クラック

屋内外用  
ランタン  
(無電源照明)



安全管理・検定標識剤

インテリア・ヒーリング



パックを開けると光る

★**安心・安全**

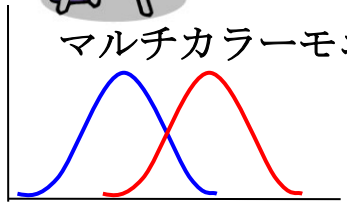
探傷試験用  
標識材料試薬

酸素センサー



現象解明・解析  
不顕在事象の  
可視化・数値化

マルチカラーモニタ

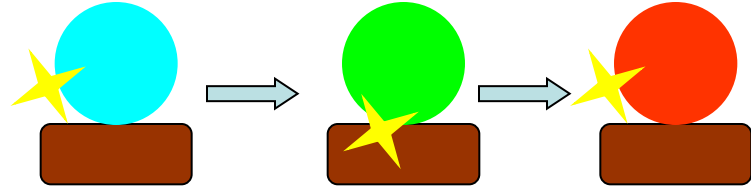


計測・測定標識剤



デザイン照明  
ヒーリング用光源

発光タイマー



SOSマーカー  
緊急信号



# 26. 発光映像

Luciferin-AMP



Probe  
(activated)



市販のデジカメで  
撮影しています！



# 27. 経済危機後の技術イノベーションパートナー

世界的先導技術創製のパートナー企業さんを募集しています！

歴史的な急成長は是非、本技術で！

ライフサイエンスの基盤技術を是非、我が国から世界へ！

## 募集する技術分野

1. 測定機器メーカー
2. 分子インプリンティング
3. 有機合成
4. タンパク工学
5. 酵素化学等



## 28. 謝辞

アカルミネ (uec 675) の工業生産では、黒金化成株式会社様に工業製法を確立いただきました。

アカルミネは、和光純薬工業株式会社様に国内外でご販売いただいております。

本学技術の実用化にご助力いただいておりますこと深謝いたします。

本研究は、**JST つなぐしくみ、シーズ発掘、A-step、科学技術コモンズ試験研究費**の助成で行われました。

皆様には深く御礼申し上げます。

<http://ganshien.umin.jp/public/research/index.html>

[http://www.mext.go.jp/a\\_menu/shinkou/sangaku/icsFiles/afieldfile/2012/10/26/1327174\\_01.pdf](http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/sangaku/icsFiles/afieldfile/2012/10/26/1327174_01.pdf)



# 29. お問い合わせ先

国立大学法人電気通信大学

産学官連携センター

産学連携コーディネーター 小島 珠世

TEL: 042 - 443 - 5780

FAX: 042 - 443 - 5108

e-mail: [kojima@crc.uec.ac.jp](mailto:kojima@crc.uec.ac.jp)

研究助成

平成18, 19年度 科学研究費補助金 基盤研究 C

平成19年度 良いシーズをつなぐ知の連携システム  
(つなぐしくみ) (JST)

平成20, 21年度 シーズ発掘試験 (JST)

平成22, 24年度 A-STEP (JST)

平成24~26年度 科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究

# 30. 技術移転のご相談

技術移転は、  
株式会社キャンパスクリエイトにご相談ください。

【お問い合わせ】

株式会社キャンパスクリエイト(電気通信大学TLO)

技術移転部

産学官連携コーディネータ 坂田・角田

Tel : 042-490-5736

Fax : 042-490-5727

E-mail : [tsunoda@campuscreate.com](mailto:tsunoda@campuscreate.com)



株式会社キャンパスクリエイト