

# 化学発光タンパク質を利用した 解析、診断、照明、アート技術

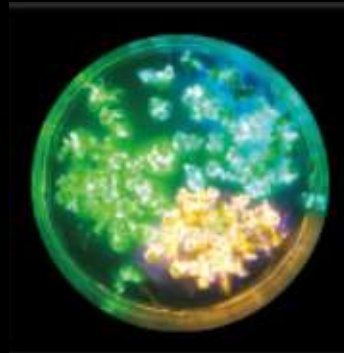
大阪大学 産業科学研究所

永井 健治

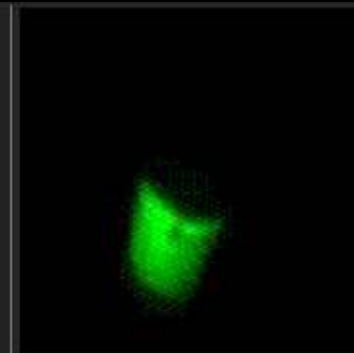
# 永井研の研究紹介

発光するタンパク質（**蛍光**タンパク質、**化学発光**タンパク質）  
の遺伝子を改変し、有用な機能を付与して生命科学研究に応用する

		
生物発光感電位センサー LOTUS-V <a href="#">Scientific Reports, 2019</a>	自発プリンキング蛍光タンパク質 SPOON <a href="#">ACS Chemical Biology, 2018</a>	光増感蛋白質 SuperNova-Green <a href="#">BMC Biol., 2018</a>
		
低雑和性発光Ca <sup>2+</sup> センサー <a href="#">ACS Chemical Biology, 2018</a>	超解像イメージング技術の開発 <a href="#">Microscopy, 2018</a>	緑色蛍光タンパク質Gemillusの開発 <a href="#">Cell Chem Biol., 2018</a>
		
高性能発光Mg <sup>2+</sup> センサー <a href="#">Curr. Biol., 2018</a>	実験医学「少数性生物学」 2017年12月号	5色の化学発光タンパク質 eNL <a href="#">Nat. Commun., 2016</a>



3色に光るコケ  
[阪大NewsLetter2016年度春号](#)



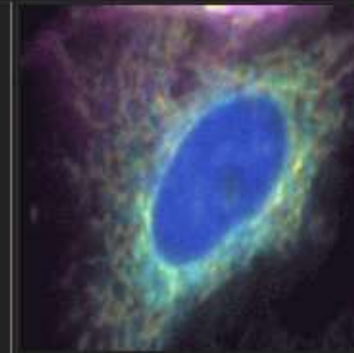
Kohinoor  
[Nat. Methods 2015](#)



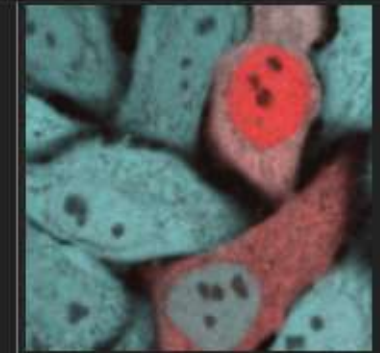
SuperNova  
[Sci. Rep. 2013](#)



Nano-lantern  
[Nat. Commun. 2012](#)



Sirius  
[Nat. Methods 2009](#)



Phamret  
[Nat. Methods 2008](#)

# 自然界の発光生物

ホタルやツキヨタケなどの光るキノコ、オワンクラゲのように、自ら光を発する事のできる生き物が存在します



ホタル



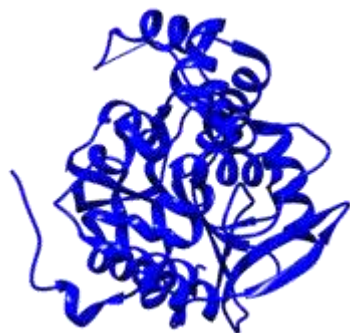
ツキヨタケ



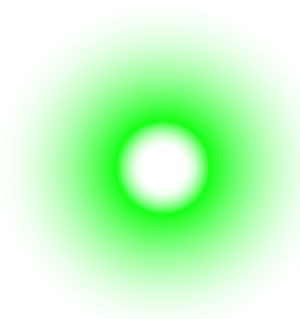
オワンクラゲ

# 化学発光のメカニズム

発光タンパク質が発光基質を酸化することで光ります  
(化学エネルギーを利用→化学発光)



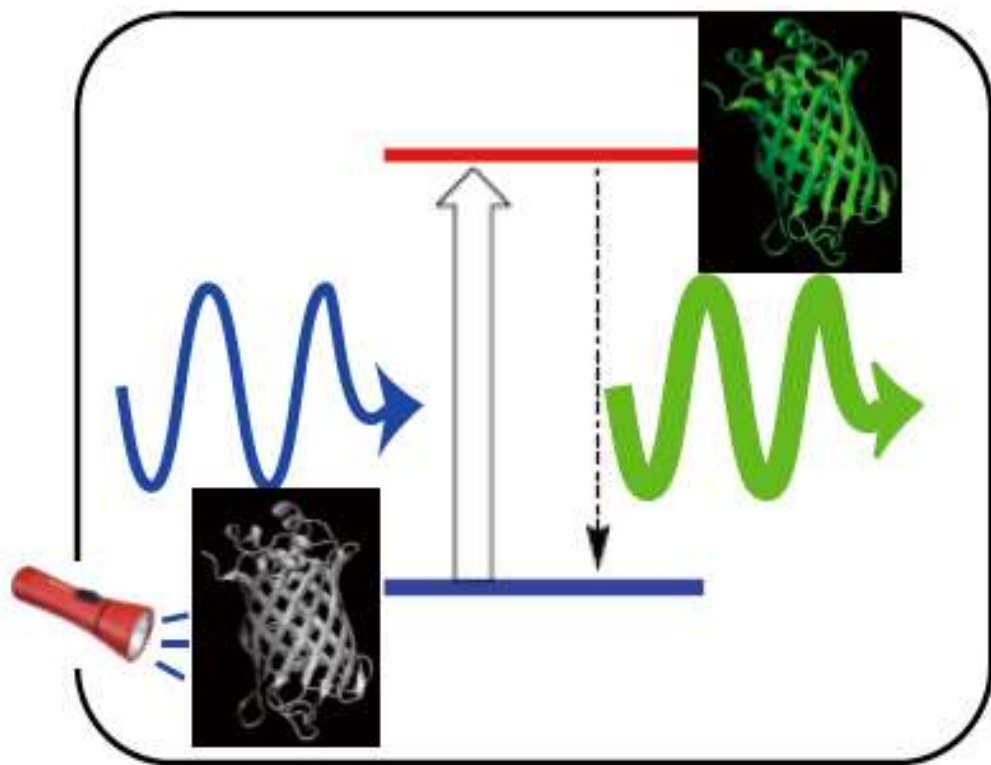
発光タンパク質  
(酸化酵素)



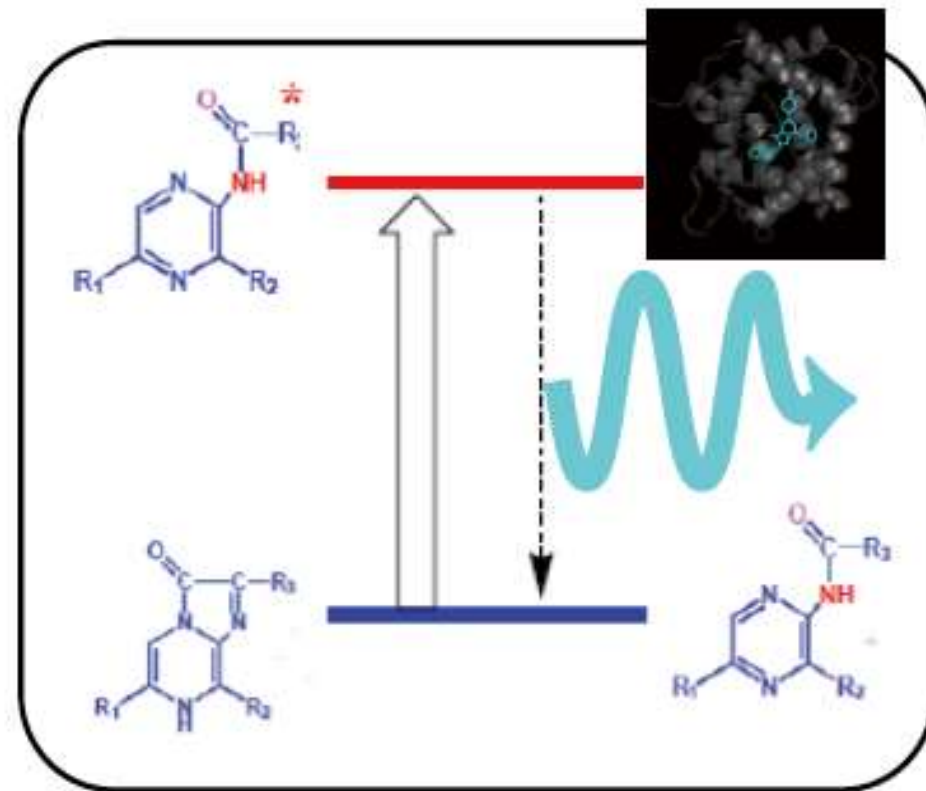
発光基質

# 化学発光と蛍光の違い

## 蛍光



## 化学発光



蛍光と化学発光では、光を発するメカニズムが異なります

# 化学発光と蛍光の違い

## 蛍光

(利点)

高い時間・空間分解能  
光による操作が可能

(欠点)

励起光の必要性  
蛍光褪色  
光損傷・光毒性  
自家蛍光  
低コントラスト  
光遺伝学との併用が不可

## 化学発光

(利点)

生体に優しい  
褪色がない  
高いコントラスト  
光遺伝学との併用が可能

(欠点)

シグナルが弱い  
低い時間・空間分解能  
発光基質の導入が必要

# 従来の化学発光の弱点

→シグナルが極めて弱い

毛の無い  
ヌードマウス

麻酔

長時間露光

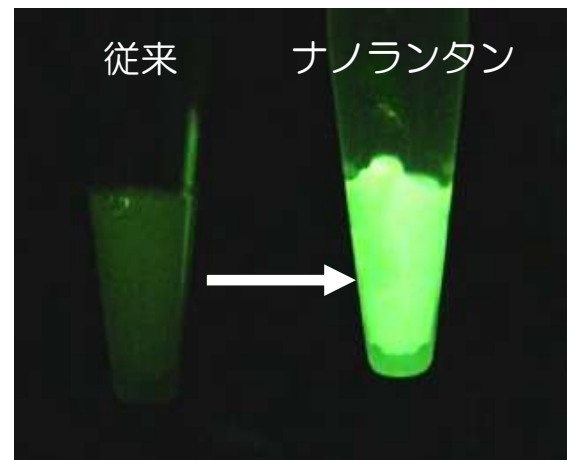
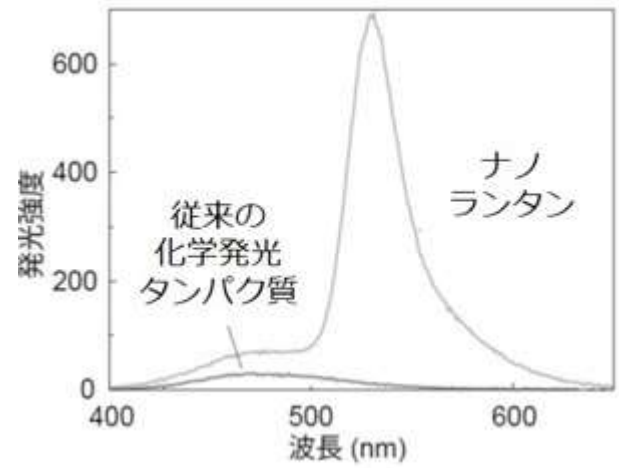
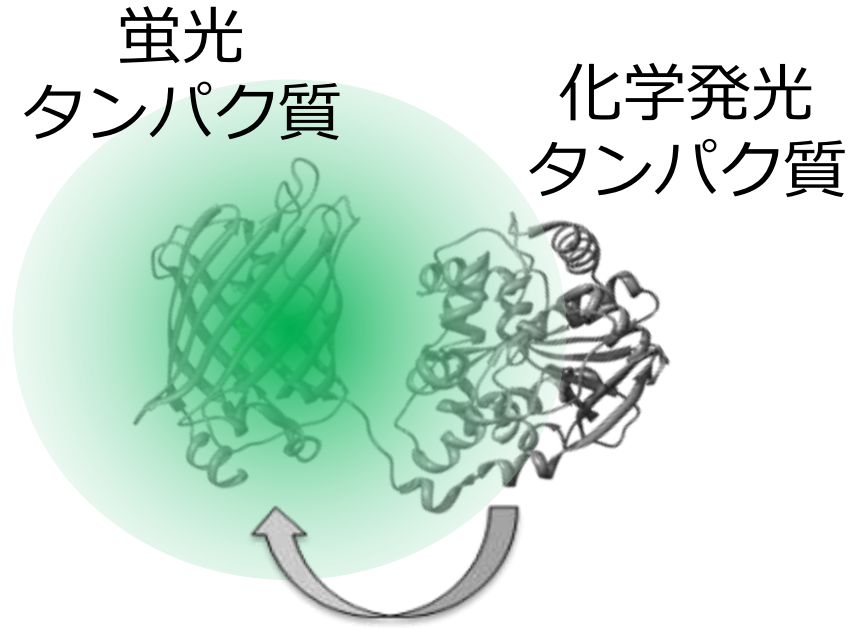


- ・正常状態での観察が困難
- ・リアルタイム観察が不可能
- ・高感度カメラが必要

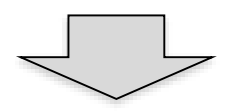
<http://www.summitpharma.co.jp/>

# 高輝度発光タンパク質“ナノランタン”

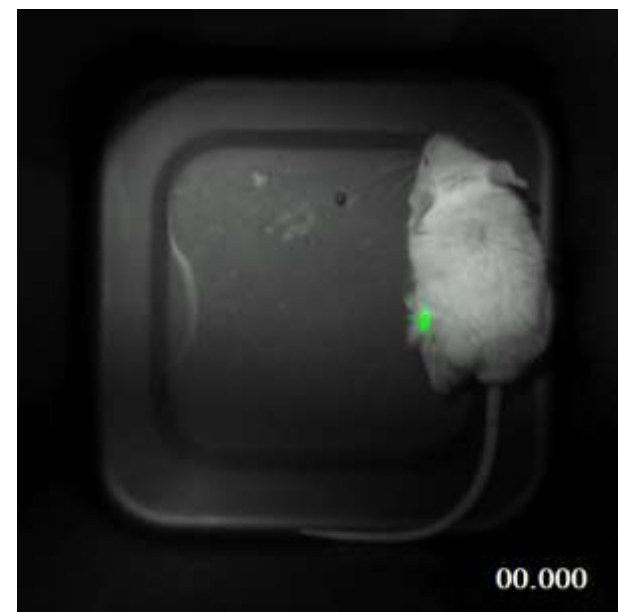
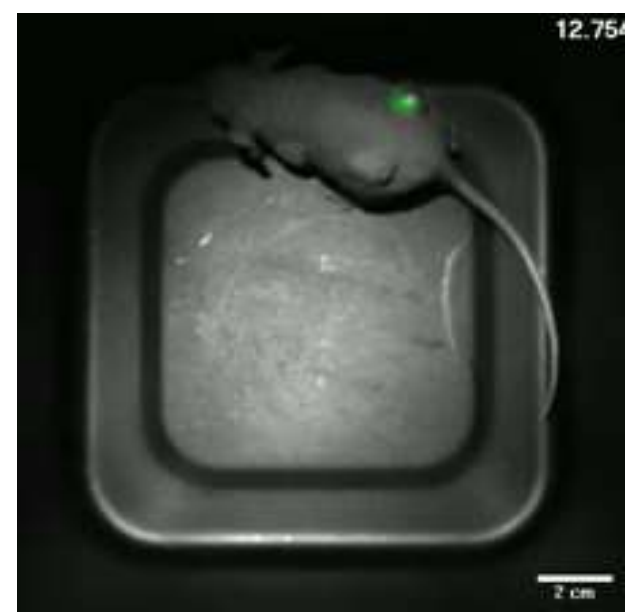
Saito et al. Nat. Commun. 2012; Takai et al. PNAS, 2015



高効率な励起エネルギー移動



熱として放出されるエネルギーも光に変換



リアルタイム観察が可能に！

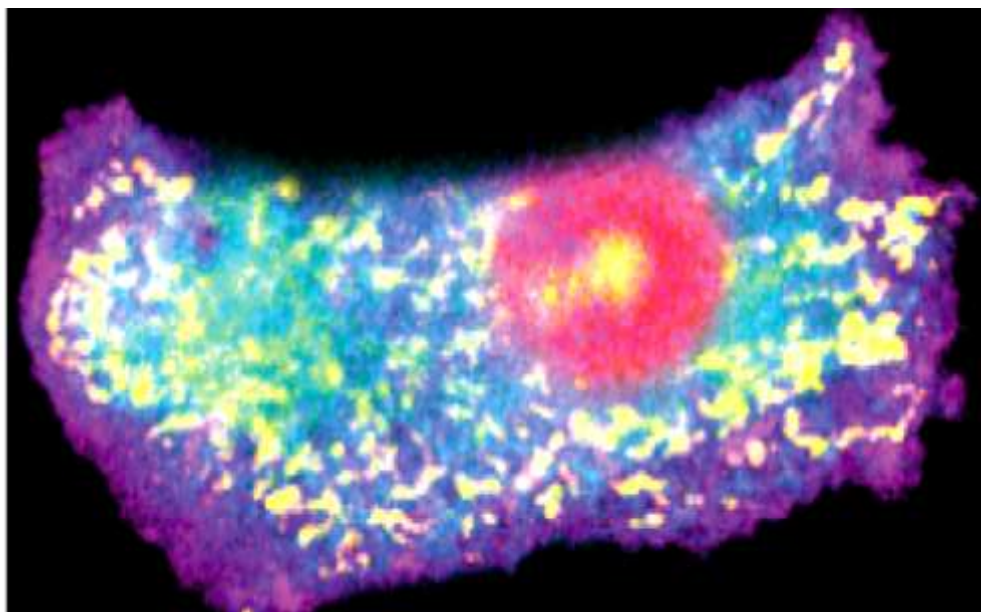


# “ナノランタン”の技術革新

## ◆ 8色のナノランタンシリーズの開発

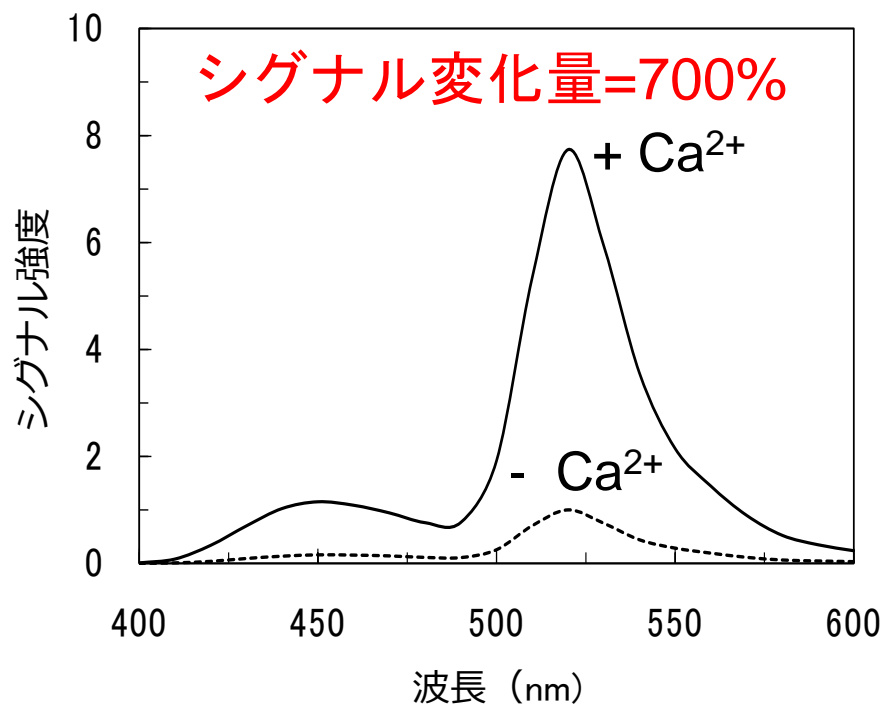
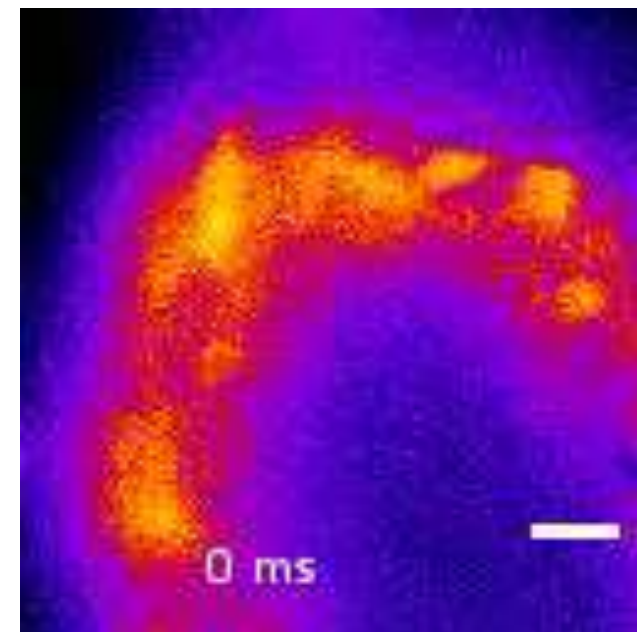
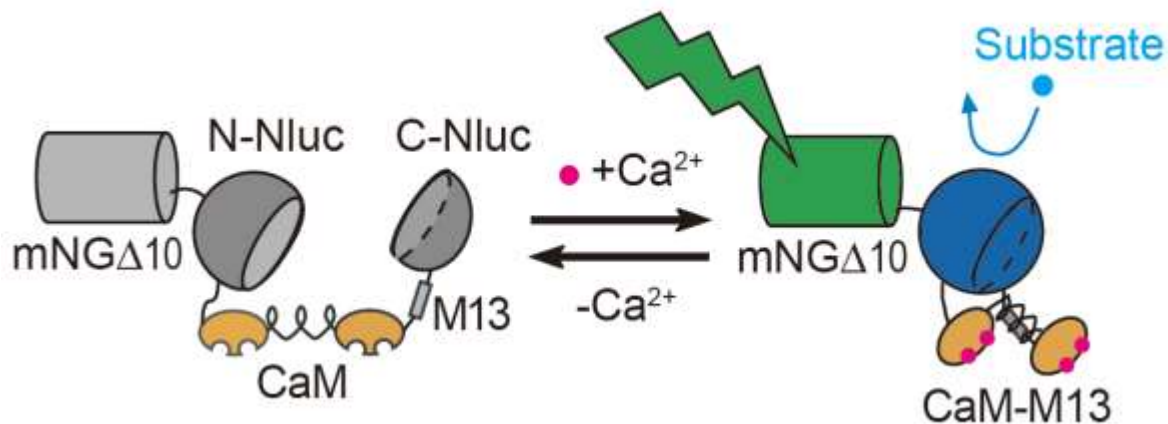


## ◆ 単細胞レベルで多色イメージング

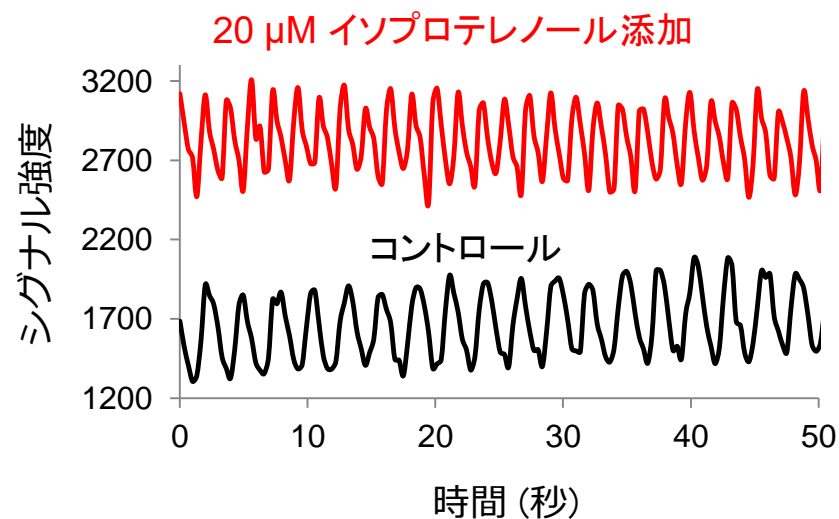


# “ナノランタン”の応用展開-1

オルガノイドなどを利用した慢性効果評価による化合物スクリーニング



Suzuki et al. Nat. Commun. 2016



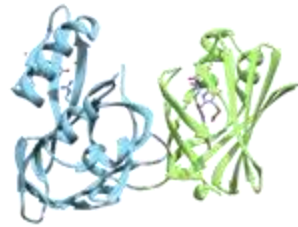
# “ナノラントラン”の応用展開－2

## スマートフォンを利用したオンサイト診断

血液成分診断用  
発光センサー

特願2017-013463

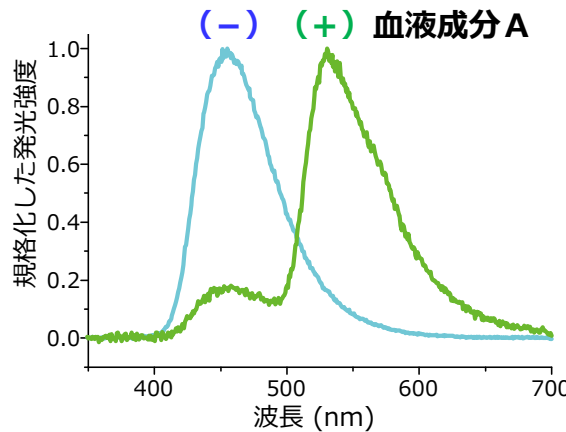
化学発光診断用基板作製法  
特願2017-018773



極微量血液採取  
(1マイクロリットル以下)



<http://www.bdj.co.jp/pas/products/safety-lancet.html>



試料採取部



WiFiで医療機関へ送信

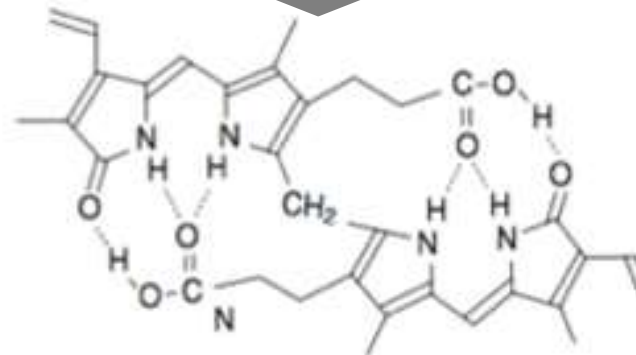
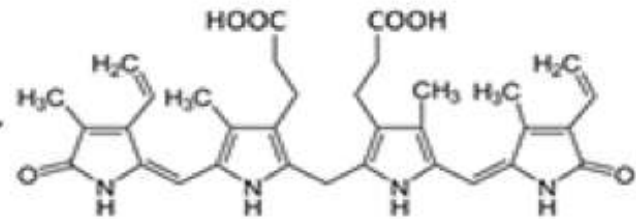
地球上のどこでも  
オンサイト診断が可能に！

# “ナノランタン”の応用展開-2

## スマートフォンを利用した血中・尿中化合物診断



新生児黄疸



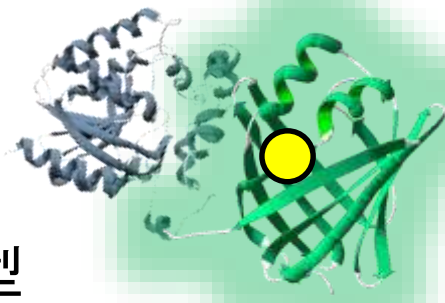
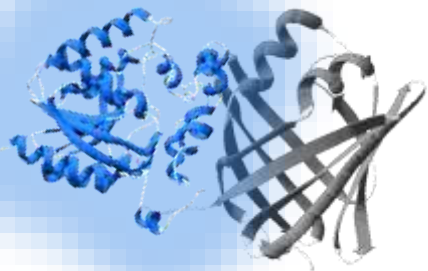
高い毒性を有する  
非包接型ビリルビン



脳症

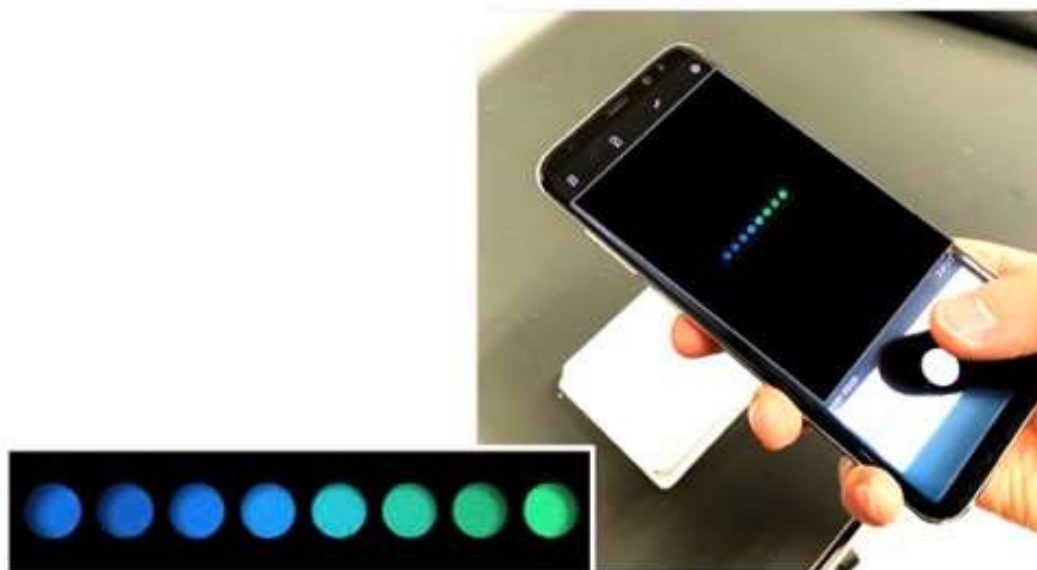
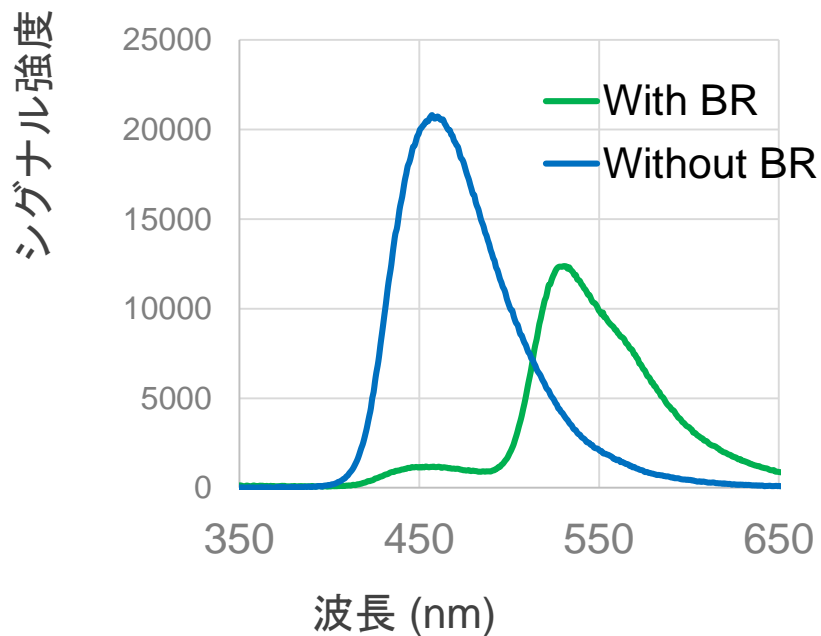
非包接型ビリルビン或いはその代謝産物の  
簡便な血中・尿中検査の需要有り

# “ナノランタン”の応用展開-2



● 非包接型  
ビリルビン

生体物質の検出方法、  
それに用いる化学発光指示薬  
特願2017-013463  
PCT/JP2018/002587



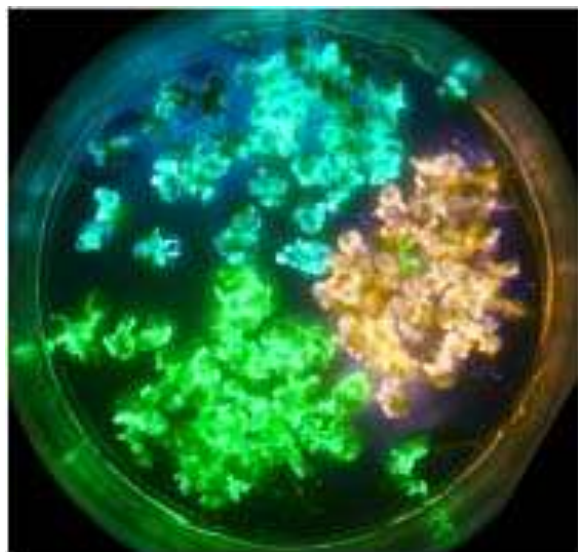
# “ナノランタン”の応用展開－3

## ナノランタン遺伝子を導入した発光植物



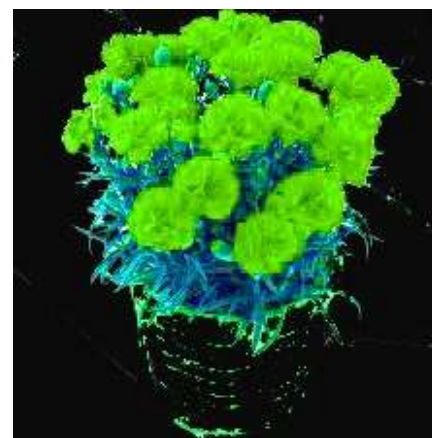
発光コケ

遺伝子導入



発光基質を振りかける  
或いは  
吸わせることにより発光

発光花のイメージ図



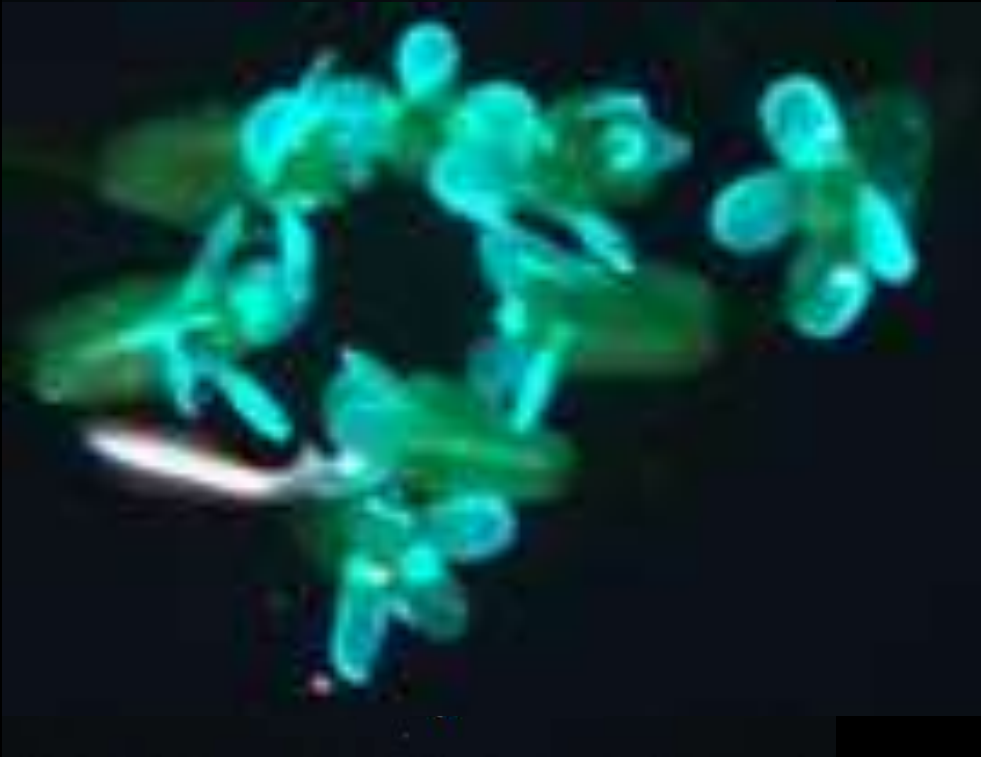
他の植物に応用

市場展開

世界初発光植物市場の創出

# その他の「発光植物」

シロイヌナズナ

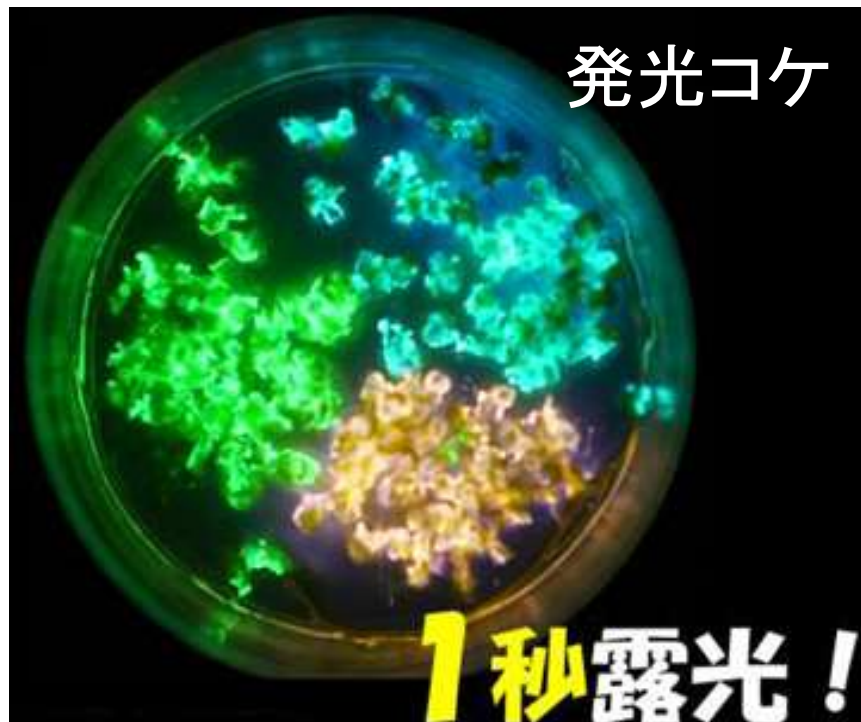


ペチュニア



# 新技術の特徴・従来技術との比較

本プロジェクト



明るさ・多色発光の点で  
圧倒的優位

VS

TAXA Biotechnologies



農研機構ら

紫外線照射  
で光るトレニア



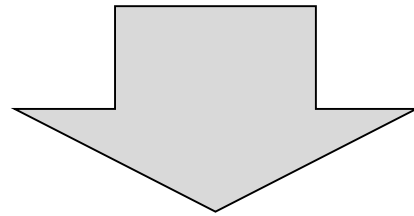
発光  
カーネーション





# 実用化に向けた課題

**基質添加なしで発光させることが必要**



**発光基質の生合成に必要な遺伝子を導入  
することで解決する**

発光基質を細胞で生合成させることで  
完全自動発光するタバコの葉を作り出すことに成功！

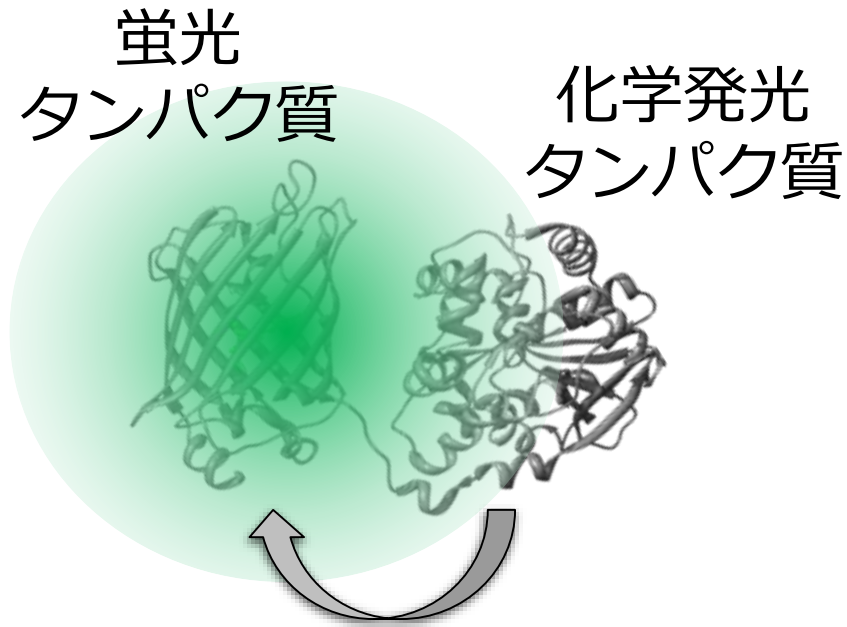


# LED: ノーベル物理学賞2014

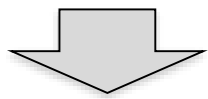
電力消費が少ない光源として注目されているが  
それでもエネルギー効率は30-40%程度



# 高輝度発光タンパク質“ナノランタン”

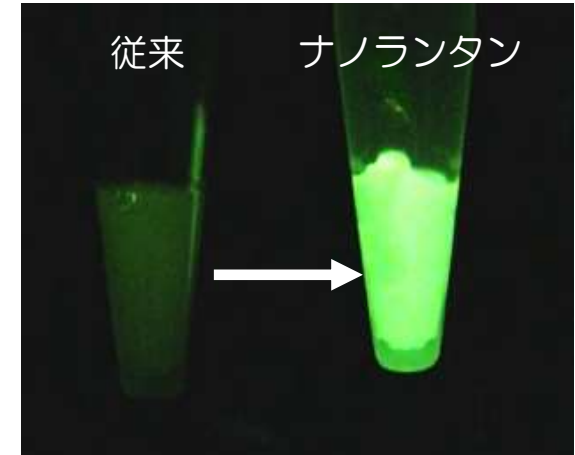
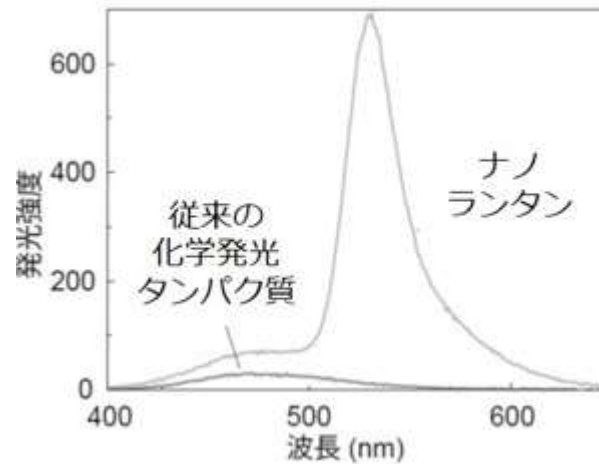


高効率な励起エネルギー移動



熱として放出されるエネルギーも光に変換

Saito et al. Nat. Commun. 2012



Gamillusを利用すれば最大90%のエネルギー効率を得られる

Protein	pKa	$\Phi$ (%)
Gamillus	3.5	90
mNeonGreen	5.7	80
mVenus	6.0	57
EYFP	6.9	67
EGFP	6.0	60

# 2050年の世界

LEDの次は**LEP** !

Light-emitting plant (発光植物)

# LEP: 発光タンパク質の未来応用



電気を使わずに夜の街を照らす技術

超エネルギー節減  
&  
脱原発

地球温暖化ストップ！

## 未来社会をデザインする、大阪・関西万博

Designing Future Society at the World Expo 2025 Osaka, Kansai

# 織維 月報

時代の半歩先を考える

FUTURE ASPECT

VOL.  
710

PUBLISHED BY ITOCHU CORPORATION

SPECIAL FEATURE  
SPOTLIGHT REPORT  
ITOCHU FLASH  
FASHION ASPECT

JUNE 2019  
MONTHLY since 1960



# 発光樹木の未来応用



# メディアでの紹介

- 日経新聞、NHKニュースなど
- 阪大NewsLetter2016年度春号
- 大阪・朝日放送  
ナイト in ナイト  
「ビーバップ！ハイヒール」  
2015年9月10日放映
- テレビ東京  
「未来シティー研究所」  
2016年8月22日放映
- ガリレオX  
2018年8月12日放映



科学 MONDAY

## 究極のエコ 光る街路樹

「光る街路樹」を作る仕組み

2種のたんぱく質融合 大阪大

米でタバコの葉成功

その種子や細胞を接種して、研究資金を稼いでいる。

同社では、タバコに発光物質の遺伝子を入れることも成功している。ただ、その樹木は、本社株主の必須品としたゼニゴケなどに比べるとかなり狭く、内閣ではほとんど分らないほどだという。

# 発光植物による未来照明



Nano-lantern



LEP



電球  
蛍光灯  
LED



室内照明



街路照明

# 発光蛋白質工学が拓く未来社会(Society 6.0)



異分野融合型の研究開発により課題を克服



# 企業への期待

- カルタヘナ法の承認に必要な農地・植物工場での大規模栽培を自治体・企業と連携して進めたい。
- 発光植物を利用したイルミネーション事業・アート事業に関心のある自治体・企業と連携して進めたい。
- 発光タンパク質を利用した診断技術に興味のある、企業との共同研究を希望。

# 本技術に関する知的財産権

発明の名称：発光蛋白質、その基質、及びそれらの仕様

出願番号：特願2018-106866

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、岩野恵

発明の名称：蛍光タンパク質

出願番号：特願2016-046953,  
PCT/JP2017/009759

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、篠田肇、松田知己、マユアンキン

発明の名称：化学発光指示薬による検体検出法

出願番号：特願2017-01877,  
PCT/JP2018/002591

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、新井由之、岩野恵

発明の名称：蛍光蛋白質

出願番号：特許第 6115923 号

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、ティバリ・ダーメンドラ・クマール、新井由之

発明の名称：生体物質の検出方法、それに用いる化学発光指示薬

出願番号：特願2017-013463,  
PCT/JP2018/002587

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、新井由之

発明の名称：蛍光蛋白質

出願番号：特願2015-097655,  
PCT/JP2016/064132

出願人：大阪大学

発明者：永井健治、高内大貴、新井由之、中野雅裕

# お問い合わせ先

**大阪大学 共創機構 産学共創・渉外本部  
シニア・リサーチ・マネージャー  
金 允政**

**TEL 06-6879-4861**

**FAX 06-6879-4205**

**e-mail [ipm@uic.Osaka-u.ac.jp](mailto:ipm@uic.Osaka-u.ac.jp)**