

## 生体深部を高感度に可視化する近赤外生物発光システム

口丸 高弘

自治医科大学 分子病態治療研究センター 教授

光は生体組織において吸収・散乱される。一方で、波長が 650 nm より長い近赤外光は可視光に比べて生体組織透過性が高い。そのため、深部組織のより高感度な可視化を目指して、近赤外光の生体組織イメージングへの活用が進められてきた。ことルシフェリン-ルシフェラーゼ反応を用いた生物発光イメージングにおいても、合成的な発光基質・酵素の開発を通して、この 10 年程の間に近赤外発光技術が進展した。電気通信大学の牧らを中心として、天然のホタル発光基質である D-luciferin を改変することで、シンプルな構造を持つ類縁体 AkaLumine が見出され、北米産ホタルルシフェラーゼ(Fluc)との反応により近赤外光を生成すること、さらにマウスの非侵襲生体イメージングへ実装が報告された<sup>[1,2]</sup>。しかしながら、AkaLumine/Fluc 反応の量子収率は D-luciferin/Fluc の 1/10 程度であり<sup>[3]</sup>、発光源から生成される光量が乏しく深部イメージングの本質的な感度の向上は達成されていなかった。この課題に対し、理化学研究所の岩野・宮脇らは AkaLumine に適したルシフェラーゼを探索し、指向性変異導入によって Akaluc を見出した<sup>[4]</sup>。AkaLumine/Akaluc 反応は近赤外発光の効率的な生成に加えて、細胞内における酵素安定性の向上など複数の要因が作用することで、D-luciferin/Fluc を用いた生体イメージングに比べて検出感度を数十倍向上することに成功した。この高感度性を活かして、幹細胞移植に伴う造血系や神経系の再構築過程やウィルス感染の解析など新たな応用が開拓されている<sup>[5-8]</sup>。

一方で、従来 Fluc を利用してきた発光イメージングユーザーの中には、ライセンス上の制約などから、AkaLumine や Akaluc を利用した近赤外生物発光イメージングを導入できない現実もある。そこで、我々は、ライセンスフリーで利用可能な近赤外生物発光反応を新たに提案している<sup>[9]</sup>。新規の D-luciferin 類縁体である AkaSuke は Fluc を含む多くの天然のホタルルシフェラーゼ群と高効率に反応し、近赤外発光(最大発光波長 680 nm)を生成する。我々は、AkaSuke の最適なペアとして久米島産ホタルから単離された DkumLuc1(kFkuc)を見出した。kFluc は、理研 BRC に遺伝子が寄託されており (#RDB14360)<sup>[10]</sup>、営利組織においても基礎研究開発用途であれば使用に制限がない。マ

ウスのほとんどの主要臓器を対象とした生体発光イメージングにおいて、AkaSuke/kFluc 反応は、AkaLumine/Akaluc 反応と同等の深部検出感度を達成できることから、AkaSuke/kFluc 反応は近赤外生物発光イメージングの新たな応用展開を支える有力な技術基盤となることを期待している。

#### [参考文献]

- [1] Iwano et al, Tetrahedron 2013, 69, 3847
- [2] Kuchimaru et al, Nat Commun 2016, 7, 11856
- [3] Ono et al, J Photochem Photobiol 2023, 434, 114270
- [4] Iwano et al, Science 2018, 359, 935
- [5] Yogo et al, Cell Rep 2025, 44, 115241
- [6] Ago et al, Commun Biol 2022, 5, 803
- [7] Tamura et al, iScience 2024, 27, 109647
- [8] Kuchimaru et al, Int J Mol Sci 2024, 25, 7338
- [9] Moriya et al, bioRxiv 2025, 10.1101/2025.01.20.633992
- [10] Ogoh et al, Biochem Biophys Rep 2020, 23, 100771