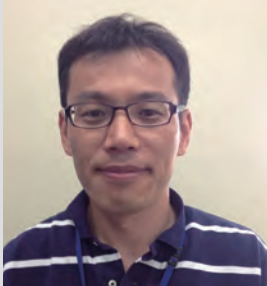


人為的に設計・開発した生物発光酵素

これまでの発光酵素より 100 倍もの明るさ



金 誠培

きむ すんべ

kimu-sb@aist.go.jp

環境管理技術研究部門
計測技術研究グループ
主任研究員
(つくばセンター)

博士課程から性ホルモン活性をもつ化学物質の生体影響評価に関する可視化研究を行ってきました。その評価ツールとして、化学物質による生体内反応を模倣した発光プローブを多数開発してきました。天然の発光材料に関する近年の探究が今回の ALuc の創製につながりました。今後、より明るく長波長発光する ALuc の樹立を目指していきます。

関連情報：

● 共同研究者

鳥村 政基 (産総研)

● 参考文献

S. Kim *et al.*: *Bioconjugate Chemistry* (ACS), 24, 2067-2075 (2013).

● 用語説明

* カイアシ類：多くはプランクトンとして生活する微小な甲殻類であり、その一部は生物発光する。

** 多重整列：多数のタンパク質のアミノ酸配列を並べあわせること。一般的に類似したタンパク質群のアミノ酸配列を並べあわせることにより、その配列間の相同性や遺伝的親類関係が分析できる。

● プレス発表

2013年11月26日「人為的に設計・開発した生物発光酵素 (ALuc)」

生物発光への期待と課題

生命科学や医療診断、環境診断などへの応用が期待されている生体分子の発光現象は、大別すると、外部からの光エネルギーで励起されて発光するもの(蛍光)と、化学反応のエネルギーで励起されて発光するもの(化学発光)があります。蛍光測定は励起光源・光学フィルターなどを必要とするため、小型化や簡易アッセイに限界がありました。一方、化学発光の一種である生物発光では、化学エネルギーを光に変換する触媒分子として発光酵素(ホタル由来の発光酵素など)が用いられますが、輝度や発光持続性などの点で産業利用に限界がありました。

優れた発光特性を示す人工生物発光酵素

私たちは以前から、発光プランクトン(カイアシ類*)の発光酵素が、分子量が小さくて強い発光強度を示す点に着目して研究を進めてきました。今回、カイアシ類の多数の発光酵素のアミノ酸配列を比較することによって頻度の高いアミノ酸を特定し、これらを独自の考え(多重整列**規則)に基づいて再配列することで、これまでの天然の発光酵素とは異なる発光酵素群を作製しました。自然界の生物がもつ天然の発光酵素とは異なることから、これを「人工生

物発光酵素(Artificial luciferase; ALuc)」と名付けました。ALucは既知の発光酵素より最大で100倍も高輝度であり、優れた発光持続性(半減期:20分)をもっています。

既存の生物発光酵素が使用されているさまざまなアッセイ系において、ALucを用いる試験を行った結果、既存のものに比べて、感度の向上、測定時間の短縮、生体組織の光透過性の増加など極めて高い優位性があることがわかりました。

今回発光酵素としてALucを開発したことにより、生命科学分野における基礎研究に貢献することはもちろん、病院での診断マーカーの高速スクリーニングや家庭での健康状態の自己管理などの医療診断分野ならびに水や食品中の内分泌攪乱化学物質などの高感度分析などの環境診断分野において、これまで感度や迅速性などの問題から適用があきらめられていたさまざまな診断への応用範囲の拡大が期待されます。

今後の予定

今回作製した生物発光酵素については、立体構造の理解に立脚したアミノ酸改変など細かい条件を調整することにより、さらに実用性を高めていきます。

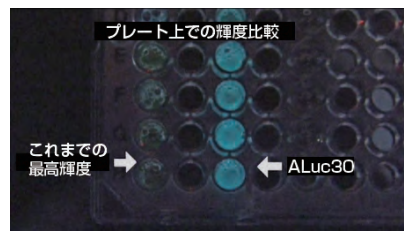


図1 人工生物発光酵素 (ALuc) の発光

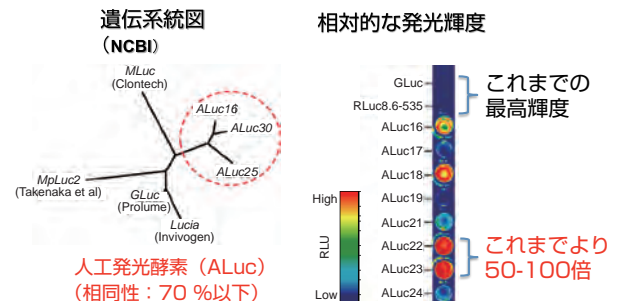


図2 「人工生物発光酵素 (ALuc)」と「これまでの最高輝度発光酵素類」との比較