



複数の細胞活動を同時に追跡するためのマルチカラー生物発光イメージング法の開発

産業科学研究所 生体分子機能科学研究分野

准教授 服部 満

<https://researchmap.jp/mhatto>

教授 永井 健治

<https://researchmap.jp/ng1>

研究の概要

ヒトの身体を構成する細胞は、集団内でそれぞれが異なる運命や環境への応答など、固有の個性を示します。そのため、研究において個々の細胞を識別する手法の重要性が高まっています。私たちは細胞の標識手法として、従来一般的に用いられてきた蛍光ではなく、励起光を必要としない生物発光を利用しました。まず、生物発光の発光色を増やすために、生物発光タンパク質と蛍光タンパク質とを組み合わせ、波長を変化させる方法を用い、20色の生物発光タンパク質シリーズ「eNLEX」を開発しました。さらに、eNLEXの異なる発光色を顕微鏡などで識別するため、スマートフォンカメラなどに用いられているカラーCMOSカメラを活用した撮影手法を導入しました。最終的に、異なる色で発光する複数の細胞を、生きたまま同時に観察することに成功しました。

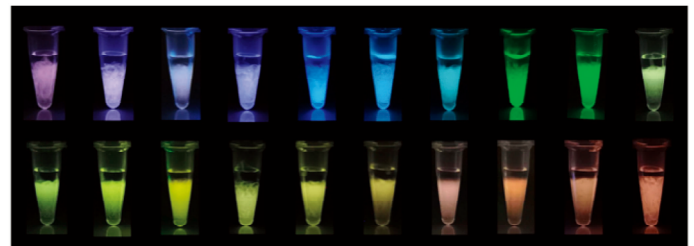
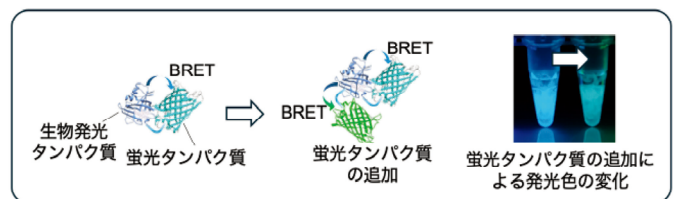
研究の背景と結果

細胞運命の追跡や、他とは異なる特徴をもつ細胞の同定など、個々の細胞を識別する手法は、様々な目的において必要とされています。顕微鏡による観察では、異なる波長をもつ蛍光物質で細胞を標識する方法が一般的です。しかし、蛍光は励起光の波長に依存して発生するため、複数の蛍光種を観察するには光学フィルターの切り替えや制御が必要となり、標識の種類が増えるほど正確な識別が困難になります。一方、生物発光は、生物発光タンパク質が発光基質と反応する際に自発的に生じる光であり、蛍光とは異なり励起光を必要としません。そのため、背景光が少なく、光毒性の懸念が無いといった利点を有しています。

私たちは、生物発光の発光色を拡張するために、青色生物発光タンパク質 NanoLuc に複数の蛍光タンパク質を繋げることで、生物発光エネルギー共鳴移動 (Bioluminescence resonance energy transfer, BRET) を誘導し、これまでにはない多様な発光色を作り出すことに成功しました。最終的に、20種類の発光色をもつ生物発光タンパク質シリーズを開発し、「eNLEX」と名付けました。従来のように光学フィルターを切り替えてモノクロカメラで検出する方法では、20色のeNLEXを同時に観察することはできません。そこで、スマートフォンなどに搭載されているカラーCMOSカメラを検出手段として利用しました。これらのカメラは、観察対象から発せられる光をセンサー上のRGB(赤・緑・青)フィルターを通して検出することで、発光の波長情報を記録することができます。このカラーCMOSカメラを顕微鏡に設置して細胞観察を行った結果、eNLEXをそれぞれ導入したヒトの培養細胞において、個々の細胞から発せられる20色の発光を生きたまま同時に観察できることを実証しました。

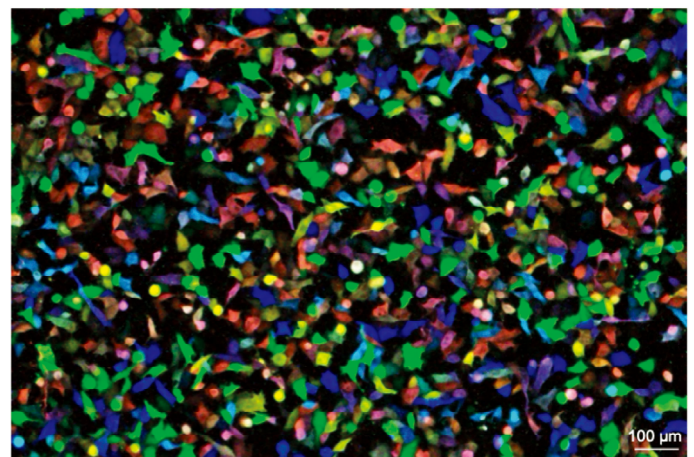
研究の意義と将来展望

生物発光とカラーカメラを組み合わせることで、簡便かつ低コストな観察システムにおいても、複数の細胞を同時に観察することが可能となります。この手法は、基礎研究にとどまらず、再生医療研究や創薬分野への応用拡大が期待されます。



20色の生物発光タンパク質「eNLEX」

図1



eNLEXを発現する培養細胞のカラーCMOSカメラによる撮影像

図2

特許

論文

Hattori, Mitsuru et al. Creating coveted bioluminescence colors for simultaneous multi-color bioimaging. Science Advances. 2025, 11(4), adp4750. doi: 10.1126/sciadv.adp4750

参考URL

<https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/bse/>

キーワード

生物発光、ルシフェラーゼ、イメージング、カラーカメラ