

細胞内の物質移動を可視化する蛍光バイオイメージングは、バイオテクノロジーやバイオメディカル分野のためのキーテクノロジーといわれている 新開発の蛍光マーカーは、長時間かつ深度が深い観察を可能にするとともに「からだにやさしいバイオイメージング」を実現する

励起光として近赤外光を用いるので、従来の紫外光励起による蛍光バイオイメージングで懸念されていた退色、光毒性、光散乱といった問題を一気に解決。UPC蛍光ナノ粒子は生理環境下で高い分散安定性を示し、ターゲットとするタンパク質に特異的に吸着します。

- 励起に用いる980nmのレーザーは半導体レーザーなのでハンドリングが容易で、スペースも取りません。
- 発光は可視光なので、現在用いられているCCDやフィルターをそのまま使用可能です。
- 希土類のイオン種 ((Er(エルビウム)、Tm(ツリウム)、Pr(プラセオジウム)) を変えることで赤、緑、青の発光プローブを用意可能。カラーラベリングも容易に行なえます。

競合技術への強み

比較項目	蛍光マーカー	励起光源	退色速度	安全性
従来技術1	蛍光タンパク質(有機系蛍光体)	紫外線(200-400nm)	× 約20秒	△ 紫外線による細胞のダメージ
従来技術2	半導体量子ドット(無機系蛍光体)	短波長可視光(400-500nm)	○ 約60分	△ Cd, Hgなどの元素毒性
本研究	UPC蛍光ナノ粒子	近赤外光(NIR)(980nm)	◎ 半永久的に発光	◎ 光毒性・プローブ自体の毒性ともなし

▲従来技術と本研究の比較

①現在、広く行われている蛍光バイオイメージングでは、マーカーに蛍光タンパク質に代表される有機系蛍光体を用いています。しかし、その多くは紫外線を励起光とするため、紫外線の高い量子エネルギーにより有機系蛍光体自体が分解し、数十秒以内で退色してしまうこと、色素以外の生体組織も紫外線のダメージを受けること、さらにマーカー以外の物質(特に生体を構成するたんぱく質をはじめとする有機物質)が発する自家蛍光がバックグラウンドとして観察されてしまうなどの問題があります。

②これらを解決するため、近赤外光(NIR)を励起光源とする蛍光マーカーの開発が1990年代後半より盛んに行われましたが、発光効率と耐久性の問題から有機分子系では実用的なものは得られていません。一方、励起光源に非紫外線である短波長可視光を用いる半導体量子ドット(無機系蛍光体をナノ粒子化したもの)の登場は退色の問題をある程度解決し、数十分の観察が可能となりましたが、水環境におけるそれ以上の長い観察は難しく、さらに直接遷移型半導体による元素毒性が問題となります。強い光散乱による観察深度の低下や、自家蛍光がバックグラウンドを招くことも解決課題とされ、長波長の近赤外光で励起する蛍光マーカーの開発が望まれていました。

③本研究開発ではアップコンバージョン(UPC)と呼ばれる赤外可視変換現象(注1)を用いて励起光源を近赤外光に変えることにより、以上のような問題点を解決し、現在よりもはるかに長時間、深い深度での蛍光バイオイメージングを可能としました。

(注1) 蛍光は紫外線や可視光線が照射され、蛍光物質がそのエネルギーを吸収することで電子が励起し、それが基底状態に戻る際に余分なエネルギーを電磁波として放出する現象。蛍光灯は、低圧水銀灯の内側に水銀の発する紫外線を吸収し、蛍光として可視光線を発する物質を塗布したものである。このように通常、蛍光は入射光線と同一あるいはより長波長の電磁波(エネルギーが低い電磁波)が放出されるが、UPC発光は赤外光を照射し、2段階以上、上のエネルギー状態に励起することで入射光線よりも短波長の(エネルギーが高い)可視光を発生させることができる技術である。

ここがポイント

生命現象を高感度、多色、動画によって可視化する蛍光バイオイメージングは、細胞工学をはじめとするバイオテクノロジー、医療分野における予防・診断・治療のための重要技術とされています。励起光源に近赤外光を用いるメリットとしては、蛍光マーカーと生体組織へのダメージ軽減のみならず、紫外光や短波長可視光を励起光源とした場合に問題となる光散乱が軽減できること等も挙げられます。これにより、視野深度を拡大できるため、3次元的なバイオイメージングに有利となります。

本研究開発ではまず、効率よくアップコンバージョン発光を示し、かつ10~200nmで均一に粒径が制御されたUPC発光ナノ粒子の合成を行いました。次に、得られた粒子上に二層の高分子で修飾を施すことにより、ターゲットのみに特異的に吸着する特異吸着能を付与しました。実験の結果、UPC発光ナノ粒子は980nm励起でアップコンバージョン発光を示し(右上図参照)、分散安定型と特異吸着性を有する優れたバイオイメージングプローブであることが証明されました。

ブレイクスルーへの道のり

2004年：東京理科大学に着任。無機系蛍光体等の材料工学研究を専門とする曾我 公平氏と生体機能高分子を専門とする長崎 幸夫氏が、発光プローブのユーザーにあたる細胞工学が専門の辻 孝氏も交えて異分野交流を始める。長崎「アップコンバージョン発光粒子は、小さくすると光らなくなるんですね」。曾我「ちゃんと光りますよ。でも生体適合性が問題」。長崎「それは簡単ですよ」。辻からの「とにかく長く発光のプローブをつくってほしい。それができればいくらでも使い道はある」という熱い要望を受けて、基礎的な研究をスタート。

2005年：曾我の希土類発光体、長崎の生体機能高分子、渡辺友亮のナノ粒子合成の実績をもとに平成17年度産業技術研究助成へ提案し、一発採択。本格的に研究開発を開始。

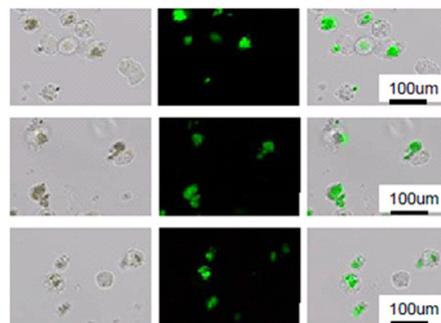
2006年：日本バイオイメージング学会学術集會に初乗り込み。曾我のポスター発表が「ベストイメージオリンパス賞」を受賞。学会へのネットワークが広がる。学術的共同研究の申し入れが増え始める。

2007年：日本バイオイメージング学会学術集會で長崎研の大学院生のポスター発表が「ベストイメージカルツァイス賞」を受賞。プロジェクトで2年連続受賞となる。

2008年：6月助成研究を終了。現在、企業との連携を検討中。

■サクセス・キー

融合的・横断的・統合的分野の研究開発において



▲マクロファージのUPCイメージング(980nm励起、550nm発光)

まず大事なスタンスは“自分がわからないこと、できないことを排除しない”です。また、相手に興味を持ち続けることも大切で、興味を失った途端にコミュニケーションは途絶えてしまいます。我々はお互いに共通のマインドを持っていたので、専門のあいだに壁を設けないスタンスを維持することができました。

最初からユーザーの切実な要望があり、課題が明確だったことも大きかったと思います。条件がゆるければ、それだけ問題解決は難しくなります。条件を絞り込むこと、さらに言えば出口をはっきりさせることで、研究開発のスピードは自ずと上がっていくのではないのでしょうか。

■ネクスト・ストーリー

現段階では、がん細胞可視化のための細胞表面イメージングには成功していますが、細胞中の現象を解明するためには粒子サイズを50nm以下に抑える必要があります。よって、このサイズでの粒子合成、凝集沈降の抑制と粒子表面修飾が今後の検討課題となります。また、プローブを簡便に使えるマーカーとしてキット化するなど、ユーザーの便宜を図る開発も求められます。

既存の半導体レーザーやCCDが使えるというアドバンテージがあるため、個人的な目算としては2010年ごろの実用化を目指しています。さらに「近赤外光で励起して可視発光を観察する」UPC蛍光バイオイメージングから、「近赤外光で励起して近赤外光を観察する」NIR蛍光バイオイメージングへと、研究開発を継続していく予定です。また、将来的には光と薬剤を使った治療法である近赤外励起フォトダイナミックセラピーへの応用もにらんでいます。現在は、複数の大手光学機器メーカーや、半導体量子ドット関連企業から連携の打診を受けています。

