

細胞内の microRNA 濃度を簡便に定量する新技術を開発！

～新しいがん診断や個別化医療への応用に期待～

ポイント

- ・細胞内の微量な microRNA (miRNA) の分布や局所濃度を可視化し、簡便に定量できる技術を開発。
- ・独自の「二足歩行型 DNA ウォーカー」設計で、細胞環境の影響を補正し、高精度な検出を実現。
- ・miRNA は疾病に関連する重要なバイオマーカーで、診断や治療に応用可能。

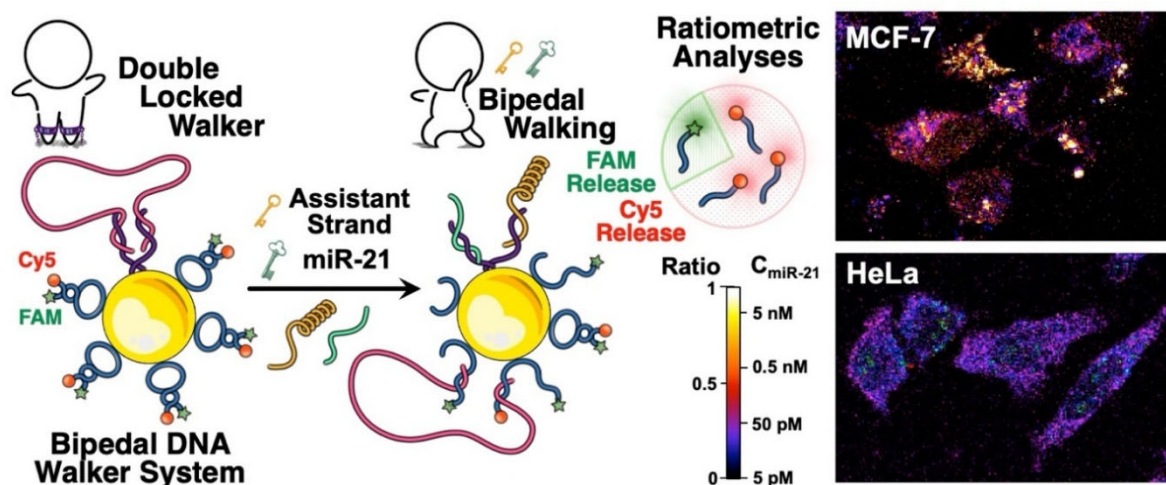
概要

北海道大学電子科学研究所の三友秀之准教授、居城邦治教授、同大学大学院生命科学院博士後期課程の卫 文婷氏らの研究グループは、細胞内の microRNA (miRNA) ^{*1} 濃度を簡便かつ正確に定量する新技術を開発しました。

がんや感染症をはじめとする多くの疾病は、細胞内 miRNA の量の変化と密接に関係しており、miRNA は有力な疾患バイオマーカー^{*2} として注目されています。そのため、生きた細胞内で miRNA を正確に定量する技術の開発は、診断や新しい治療法の開発に直結する重要な課題とされてきました。

本研究では、ナノスケールの DNA マシンを応用し、「二足歩行型 DNA ウォーカー^{*3}」を基盤とした検出システムを構築しました。この DNA ナノマシンは、複雑な抽出や前処理を必要とせず、生きた細胞をそのまま観察できる簡便さを有しています。さらに、このセンサーは二本の「脚」を持ち、一方が検出シグナルを、もう一方が内部基準シグナル^{*4} を同時に出す仕組みを備えています。これにより、細胞内の局所環境（イオン濃度など）の違いによって生じる誤差をその場で補正し、従来法では困難であった高精度な定量測定を可能にしました。共焦点蛍光イメージングを用いることで、生きたままの細胞内部における miRNA の分布を可視化することにも成功しました。

本成果は、がん診断や個別化医療^{*5}、創薬研究の発展に大きく貢献することが期待されます。なお、本研究成果は、2025 年 10 月 21 日（火）公開の Analytical Chemistry 誌に掲載されました。また、今回の研究成果が高く評価され、本研究が掲載誌の表紙に選出されました。



金ナノ粒子^{*6}上の二足歩行型 DNA ウォーカーを用いて、環境変動を補正しつつ、生細胞内 miRNA を簡便かつ高精度に定量検出

【背景】

近年、microRNA (miRNA) は、がんをはじめとする多くの疾病に深く関わる分子として注目されています。miRNA は細胞内で遺伝子の働きを調節する役割を担っており、その量の変化ががんの発症や進行、さらには転移とも関係していることが知られています。そのため、miRNA は新しい疾患マーカーとして、診断や治療のターゲットに期待されています。しかし、miRNA は細胞内にごく微量しか存在せず、従来の検出法 (qPCR、FISH、マイクロアレイなど) では、細胞を破壊したり固定したりしなければ測定できませんでした。このため、生きた細胞の中の複雑な環境においても miRNA を正確に定量することは大きな課題となっていました。さらに、細胞内部は一様ではなく、部位によってイオン濃度や pH といった環境が異なります。こうしたばらつきが、従来のシグナル増幅型の検出法に影響を与え、測定精度を低下させる要因となっていました。

本研究は、これらの課題を克服し、生きた細胞内における miRNA を簡便かつ高精度に定量できる新しい方法の確立を目的として行われました。

【研究手法と成果】

本研究では、金ナノ粒子を足場として、ナノスケールの DNA 構造体を用いた「二足歩行型 DNA ウォーカー」を設計し、細胞内の miRNA を検出するセンサーとして応用しました。DNA ウォーカーは、二本の「脚」を交互に動かしながら表面上を進むナノマシンです。今回開発したセンサーでは、一方の脚が標的 miRNA と結合して蛍光シグナルを発生させ、もう一方の脚が同時に「内部基準」となるシグナルを生成する仕組みを備えています (図 1)。この設計により、シグナルの強弱に影響する実験条件や細胞内環境のばらつきをその場で補正できる設計とし、in vitro 実験で有効性を確認しました (図 2)。さらに、DNA はそのままでは細胞内に入りにくいいため、内部標準シグナルを生成する脚を解放するキーとなる DNA には、ガン細胞表面に多く発現する膜タンパク質を認識するアプタマー^{*7} 配列も附与しました。これにより、本センサーはガン細胞の内部に積極的に取り込まれるようになりました。細胞内の miRNA-21 濃度は、共焦点蛍光イメージングを用いて測定しました (図 3A)。各ピクセルにおける蛍光強度比から miRNA 濃度を換算し、その平均値を細胞全体の濃度として算出しました (図 3B)。これにより、細胞ごとの miRNA 発現量の違いだけでなく、同じ細胞内における部位ごとの分布の違いも明らかにすることに成功しました。こうした空間的な不均一性は、miRNA が細胞内でどのように機能するかを理解するうえで重要な手がかりを提供します。

【今後への期待】

本研究で確立した手法は、細胞内 miRNA をはじめとする微量な核酸分子を、生きたままの状態でも簡便かつ正確に定量できるプラットフォームとして発展が期待されます。今後、がんの早期診断、個別化医療、創薬研究などへの応用が見込まれ、生命科学や医療分野の進展に大きく寄与することが期待されます。

【謝辞】

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業 (JP21H01736、JP24K01275、JP24K03258)、中国国家留学基金委員会 (CSC: no. 202108330034)、文部科学省「人と知と物質で未来を創るクロスオーバーアライアンス」、日本学術振興会 研究拠点形成事業 (先端拠点形成型) (JSPS Core-to-Core Program for Advanced Research Networks) の支援を受けて実施されました。

論文情報

論文名 Highly Sensitive and Quantitative Detection of microRNA-21 in Cells Using Bipedal DNA Walker-Based Ratiometric Fluorescent Sensor (二足歩行型 DNA ウォーカー比率蛍光センサーによる細胞内 microRNA-21 の高感度・定量検出)

著者名 Wei Wenting¹、Lin Han²、居城邦治²、三友秀之² (¹北海道大学大学院生命科学院、²北海道大学電子科学研究所)

雑誌名 Analytical Chemistry (分析化学の専門誌)

D O I 10.1021/acs.analchem.5c04705

公表日 日本時間 2025 年 10 月 21 日 (火) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学電子科学研究所 准教授 三友秀之 (みともひでゆき)

T E L 011-706-9370 F A X 011-706-9361 メール mitomo@es.hokudai.ac.jp

U R L <https://chem.es.hokudai.ac.jp>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

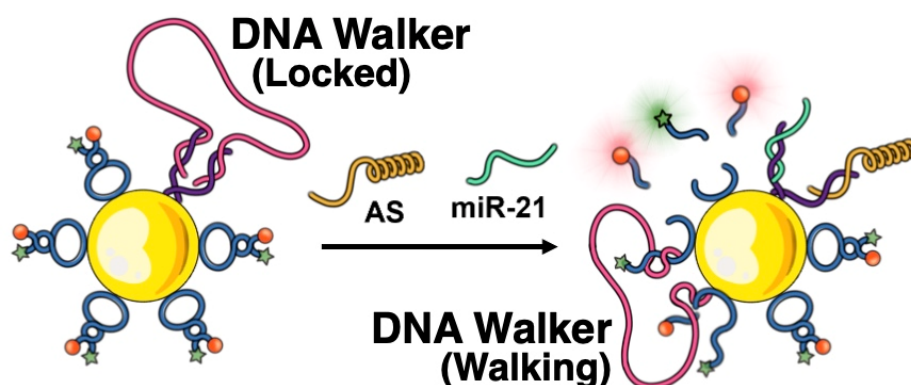


図 1. 二足歩行型 DNA ウォーカーセンサーのメカニズムの概要図

(DNA ウォーカーが miR-21 と AS の存在下で 2 色の蛍光色素を放出していく様子)

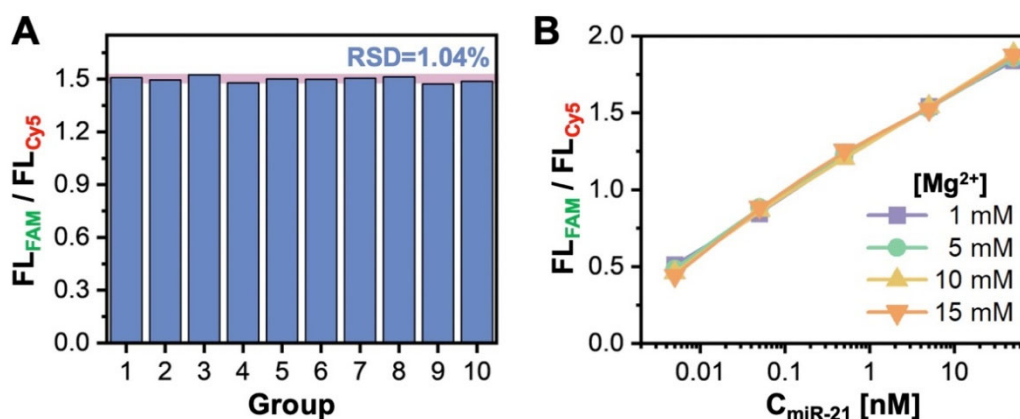


図 2. (A) 10 個の独立したサンプルを測定した際の蛍光強度比のばらつき

(B) 異なる Mg^{2+} イオン濃度条件における miR-21 の濃度と蛍光強度比の相関関係

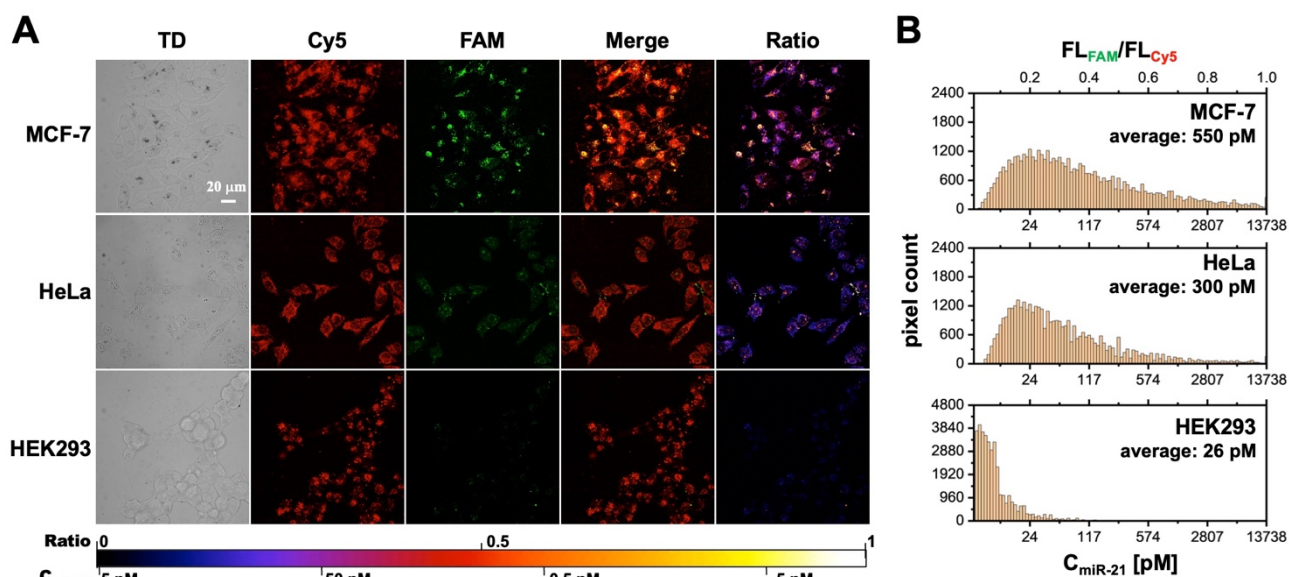


図 3. (A) 共焦点レーザー顕微鏡^{*8}による観察像
(B) 各ピクセルにおける蛍光強度比をベースとした miR-21 濃度のヒストグラム

【用語解説】

- *1 microRNA (miRNA) … 遺伝子の働きを調節するごく短い RNA 分子。長さは 20 塩基前後と非常に小さく、細胞内での量の変化ががんなどの疾病と深く関わっている。
- *2 疾患バイオマーカー … 病気の有無や進行度を判断する手がかりとなる分子や物質。
- *3 DNA ウォーカー … DNA 分子を組み合わせて作られたナノサイズの「分子マシン」。基板上で DNA と結合、分解を繰り返しながら動く仕組みを持つ。
- *4 内部基準シグナル … 実験条件の違いや環境のばらつきを補正するための「比較用の信号」。これを同時に測定することで、誤差を減らして正確に定量できる。
- *5 個別化医療 … 患者ごとの遺伝子情報や分子マーカーに基づき、最適な治療法を選択する医療アプローチ。
- *6 金ナノ粒子 … 数十ナノメートルサイズの金の微粒子。光学的に特徴的な性質を持ち、バイオセンサーや医療診断に広く利用される。
- *7 アプタマー … 特定の分子やタンパク質に結合するように人工的に設計された短い DNA や RNA 配列。抗体のような役割を果たし、分子認識に利用される。
- *8 共焦点レーザー顕微鏡（共焦点蛍光イメージング）… レーザー光を用いて細胞内を高解像度で観察できる顕微鏡。蛍光分子の位置や量を三次元的に可視化できる。