

NEWS RELEASE

報道関係者 各位

2025 年 6 月 25 日  
国立大学法人 東京農工大学

## pH 応答性かつ高い蛍光を示す RNA アプタマーの開発に成功 —細胞内の pH 測定や RNA の観察への展開に期待—

国立大学法人東京農工大学 大学院工学府生命工学専攻博士課程 上野 絹子氏（研究当時）、同大学院工学研究院生命機能科学部門の塚越 かおり助教（研究当時、現・東京理科大学准教授）、池袋 一典卓越教授らの研究グループは、ローマ大学との国際共同研究において、蛍光性の RNA アプタマー（標的分子に対して特異的に結合する RNA 分子）である Baby Spinach アプタマーの末端に pH に応じて形を変える RNA 三重鎖を導入することで、pH 応答性を持ち、従来より十数倍高い蛍光強度を有する新規 RNA アプタマー、Bright Baby Spinach の開発に成功しました。Bright Baby Spinach は、細胞内 pH の測定や、生細胞内における RNA のリアルタイムでの観察など、様々な用途に応用できると期待されます。

本研究成果は、Nucleic Acid Research（6 月 24 日付）に掲載されました。

論文タイトル：Bright and pH-sensitive Baby Spinach aptamer with RNA triplex fusion

URL：<https://academic.oup.com/nar/article/53/11/gkaf151/8166788?login=true>

**背景：**RNA は細胞内で多様な機能を担う核酸分子であり、転写・翻訳のみならず、遺伝子サイレンシング、翻訳制御、細胞内シグナル伝達などにも関与することが知られています。また、機能性 RNA は細胞内環境（特に pH）に応じて構造変化を起こしその機能を発揮するため、RNA を用いて細胞内 pH を追跡することは細胞内メカニズムの解析に有用です。

現在、細胞内 pH を測定する方法として、磁気共鳴分光法や陽電子放射断層撮影法（PET）などが用いられていますが、これらは高精度ながら装置が高価であり、リアルタイムのモニタリングには適していません。一方で、蛍光 pH 指示薬（例：2',7'-ビス（カルボキシエチル）-5,6-カルボキシフルオレセイン）を用いた測定法は簡便であるものの、細胞内への取り込み効率が低く、長期観察には向いていません。そこで近年、核酸を利用した pH センシング技術が注目されています。特に、DNA や RNA の三重鎖構造は pH 感受性が高く、細胞内 pH モニタリングのためのプローブとして有望です。しかし、細胞内からシグナルを取得する方法が確立しておらず、かつ適用可能な pH の範囲が狭い、等の問題があり、未だ実用化には至っておりません。従って、これらの課題を解決できるセンシング技術の開発が急務の課題でした。

**研究体制**：国立大学法人東京農工大学 大学院工学府生命工学専攻博士課程 上野 絹子氏（研究当時）、同大学院工学研究院生命機能科学部門の塚越 かおり助教（研究当時、現・東京理科大学准教授）、池袋 一典卓越教授らの研究グループの研究グループと、ローマ大学のリッチ フランシスコ教授らの研究グループとの国際共同研究により行われました。

**研究成果**：特定の低分子と結合し蛍光性を示す RNA アプタマーが知られています。RNA 分子は標的細胞内で連続的に合成することができるため、高い蛍光強度と pH 応答性を備えた RNA アプタマーが開発できれば、リアルタイムな細胞内 pH モニタリングが可能です。そこで本研究では、蛍光性 RNA アプタマーである Baby Spinach アプタマーの末端に pH 変化に応じて構造を変える三重鎖形成塩基配列を導入することで、細胞内 pH モニタリングのシグナル分子として機能する新規蛍光性 RNA アプタマーの開発に挑戦しました（図 1）。新規蛍光性 RNA アプタマーである Bright Baby Spinach は、従来の Baby Spinach アプタマーの両末端に三重鎖を形成する塩基配列を導入し開発しました（図 1）。Bright Baby Spinach は 3, 5-ジフルオロ-4-ヒドロキシベンジリデンイミダゾリノン (DFHBI) と結合することで、従来の DFHBI と結合した Baby Spinach アプタマーと比較して、十数倍高い蛍光強度を示しました。そして、Bright Baby Spinach は pH7.0 をピークとした高感度な pH 応答性も有していました。ヒト由来の細胞株である Hela 細胞内にこの Bright Baby Spinach の遺伝子を導入して転写させ、その蛍光強度を評価した結果、Baby Spinach アプタマーよりも 12 倍強い蛍光強度を示し、また細胞内の pH 条件を変化させると、Bright Baby Spinach は pH7~9 の範囲で、pH に応じて蛍光強度を変化させました。これは pH 応答性をもつ蛍光性 RNA アプタマーの開発として世界で最初の報告となります。

**今後の展開**：本研究で、pH 応答性を有する蛍光性 RNA アプタマーが初めて開発されました。これまでも Spinach アプタマー以外に Broccoli アプタマーなど、複数の蛍光性 RNA アプタマーが報告されているため、それらにも同様に三重鎖を導入すれば蛍光強度の向上や pH 応答性が見込めるかもしれません。三重鎖を形成する塩基のプロトン化により三重鎖構造が惹起されていると推定され、これらを形成するそれぞれの塩基と三重鎖構造形成の相関を検討すれば、目的の pH 領域で構造変化を引き起こす pH ナノスイッチアプタマーの開発もできると考えています。そのため、今後はさらに Bright Baby Spinach の三重鎖形成の最適な条件検討を重ねることで、高感度なライブセルイメージングを始め、様々な用途への応用が期待されます。

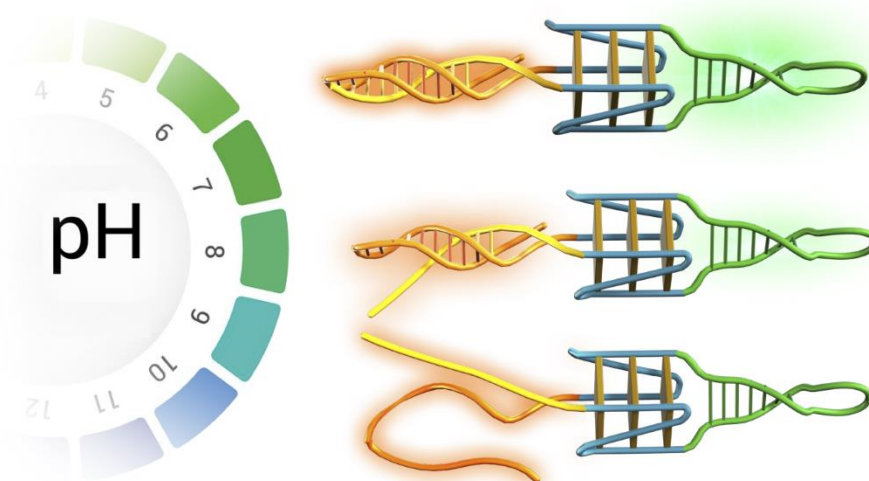


図 1：開発した Bright Baby Spinach のモデル構造図（*Nucleic Acids Research*, 53(11), 2025, gkaf151)から転載）。

◆研究に関する問い合わせ◆

東京農工大学 大学院工学研究院

生命機能科学部門 教授

池袋 一典 (いけぶくろ かずのり)

TEL : 042-388-7030

E-mail : [ikebu@cc.tuat.ac.jp](mailto:ikebu@cc.tuat.ac.jp)