

NEWS RELEASE

国立大学法人東京農工大学
国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)
公立大学法人横浜市立大学
学校法人北里研究所北里大学
国立大学法人東京大学
国立大学法人東北大学
国立大学法人徳島大学

マイクロ液滴を含む新流体材料を利用した 「マイクロフローアッセイ法」の開発に成功 ～ウイルス感染能の超高感度定量測定を実現～

ポイント

- ・ PCR 法では困難だった、ウイルス感染能の超高感度定量測定を可能にする新たな技術「マイクロフローアッセイ法」を開発しました。マイクロフローアッセイ法では、ウイルス感染能を迅速に定量測定することができ、従来のプラークアッセイ法と比べて 10 倍以上高い感度で大幅な測定時間の短縮を実現しました。
- ・ ウイルス感染能の高感度測定にむけ、多糖類の一種であるデキストラン (Dex) からなるマイクロ液滴が分散した新たな全水系の流体材料を開発しました。
- ・ M13 ファージウイルス^{注1)}と大腸菌を Dex マイクロ液滴内に局在させ、ウイルスを閉じ込めることに成功し、フローサイトメトリー解析^{注2)}によるウイルス感染能の超高感度定量測定が可能になりました。

本研究成果は、2026 年 7 月 22 日（水）、Nature Communications 誌のオンライン版で公開されました。

論文タイトル：Supramolecular nanofiber stabilization of microdroplets enables ultra-sensitive virus infection analysis

著者：Noriyuki Uchida, Atsuya Yaguchi, Shiori Kondo, Kazuyoshi Muranishi, Haruka Kawabata, Haruka Umezawa, Naito Ishimoto, Michiko Tajiri, Satoko Akashi, Takuya Seki, Go Watanabe, Ayano Yoshida, Genki Higuchi, Jakuei Fu, Takanobu Takenouchi, Daisuke Yoshino, Hirotsugu Hiramatsu, Masaki Okumura, Tomohide Saio, Hiroyuki Noji, Young-Ho Lee, Sam-Yong Park, Takahiro Muraoka

***責任著者：**Noriyuki Uchida（内田紀之）、Sam-Yong Park（朴三用）、Takahiro Muraoka（村岡貴博）

URL：<https://www.nature.com/articles/s41467-026-75297-x>

DOI：10.1038/s41467-026-75297-x

概要：ウイルスの超高感度検出は、感染症の拡大を防ぐ上で重要な技術です。ウイルスの核酸量を測定する PCR 法は、ウイルスの絶対量を高感度で測定する技術として実用化されています。しかし、PCR 法では失活したウイルスも計測されるため、感染能の正確な定量評価には適しておらず、ウイルス感染能を超高感度定量測定する技術は、未確立の現状にあります。

本研究チームでは、細胞内に見られるマイクロ液滴から着想を得て、ウイルス感染能の超高感度定量測定を可能にする新たな流体材料の開発に成功しました。開発した流体材料は、その内部にマイクロ液滴を含みます。通常、マイクロ液滴は速やかに融合し、マクロな相分離に至るため、微小空間が求められる微量サンプルの高感度検出への適用は困難でした。本研究チームは、ポリエチレングリコール (PEG) 水溶液中に作られるデキストラン (Dex) マイクロ液滴の融合を長時間にわたり抑制する AzSAP ペプチドナノファイバーを用いて、マイクロ液滴が分散した新たな流体材料を開発しました。流体材料中の Dex マイクロ液滴内部に、M13 ファージウイルスと、その宿主細胞である大腸菌を局在させると、ファージウイルスの液滴外での二次感染^{注 3)}が抑えられ、フローサイトメトリー解析によってウイルス感染の超高感度定量測定が可能になりました。本研究で開発した新たなウイルス感染能の定量測定法「マイクロフローアッセイ法」は、従来の感染能測定方法であるブラックアッセイ法に比べて 10 倍以上高い感度と、測定時間の大幅な短縮を実現しました。

背景：細胞内では、液相分離によって生じるマイクロ液滴が、核酸やタンパク質などの微量の生体高分子を濃縮し、反応を効率化するマイクロリアクターとして機能しています。この生体现象から着想を得て、微量サンプルの反応や検出に向けたバイオリアクター、バイオアッセイ法として、Dex からなる人工マイクロ液滴を応用する研究が活発に行われています。しかし、Dex マイクロ液滴は短時間で液滴同士が融合し、マクロ相分離^{注 4)}へ移行するため、その応用利用は限定的な範囲にとどまっています。

研究体制：本研究は、東京農工大学大学院工学研究院応用化学部門の内田紀之特任講師、村岡貴博教授、同研究院先端物理工学部門の吉野大輔教授、大学院工学府の村西和佳特任助教、矢口敦也（博士後期課程修了）、近藤詩織（博士前期課程修了）、吉田彩乃（博士前期課程）、樋口元気（博士前期課程修了）、付若瀛（博士前期課程修了）、竹之内隆伸（博士後期課程）、横浜市立大学大学院生命医科学研究科の川端悠（博士後期課程）、梅澤遥佳（博士前期課程）、石本直偉士助教、田尻道子特任助教、明石知子客員教授、朴三用教授、北里大学大学院理学研究科の關拓和（博士後期課程）、同大学未来工学部の渡辺豪教授、東京大学大学院工学系研究科の野地博行教授、韓国基礎科学支援研究院バイオ融合研究部の李映昊教授、東北大学学際科学フロンティア研究所の奥村正樹准教授（ディスティングイッシュトアソシエイトプロフェッサー）、台湾国立陽明交通大学応用化学科の平松弘嗣教授、徳島大学先端酵素学研究所の齋尾智英教授の国際研究グループによって行われました。

本成果は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 CREST（課題番号: JPMJCR19S4、研究分担者：村岡貴博）、創発的研究支援事業（課題番号: JPMJFR244H、研究代表者：内田紀之、JPMJFR2122、研究代表者：村岡貴博）、先端国際共同研究推進事業 ASPIRE（課

題番号: JPMJAP2526、研究代表者: 村岡貴博)、戦略的創造研究推進事業 ACT-X (課題番号: JPMJAX23DL、研究代表者: 矢口敦也)、独立行政法人日本学術振興会 (JSPS) 科研費 学術変革領域研究 (B) (課題番号: JP21H05096、研究代表者: 村岡貴博)、基盤研究 (B) (課題番号: JP25K01891、研究代表者: 村岡貴博)、基盤研究 (C) (課題番号: JP23K04927、研究代表者: 内田紀之)、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) 官民による若手研究者発掘支援事業 (課題番号: 23W1M041、研究代表者: 内田紀之)、一般財団法人キヤノン財団 (村岡貴博)、公益財団法人旭硝子財団 (村岡貴博、内田紀之)、公益社団法人新化学技術推進協会 (内田紀之)、一般財団法人田中貴金属記念財団 (内田紀之)、公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団 (内田紀之)、公益財団法人ロッテ財団 (内田紀之)、一般財団法人向科学技術振興財団 (村岡貴博)、公益財団法人 JKA (村岡貴博)、公益財団法人藤森科学技術振興財団 (村岡貴博)、積水化学工業株式会社 (村岡貴博)、公益財団法人高橋産業経済研究財団 (村岡貴博) の支援を受けて得られました。

研究の内容と成果: 親水性残基と疎水性残基が交互に配列された両親媒性ペプチドは、自己集合性のナノファイバーを形成します。本研究課題では、N 末端近傍にアゾベンゼン側鎖を有するアミノ酸残基 (Az) を含む 7 つのアミノ酸残基からなる自己集合ペプチド (図 1a、AzSAP, Ac-RAzRADMR-NH₂) を開発しました。AzSAP が形成するナノファイバーが Dex 液滴を安定化させると共に、アゾベンゼンの光異性化^{注5)} を利用することで、Dex 液滴の安定性を光制御できると考えました (図 1b, c)。AzSAP を水中に分散させたところ、 β シート構造^{注6)} を形成することが円偏光二色性 (CD) 測定^{注7)} により示され (図 2a)、期待通りナノファイバーが形成されていることが透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察^{注8)} により確認されました (図 2b)。興味深いことに、クライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) 解析を行ったところ、AzSAP ファイバーは 14 量体からなる蝶型断面構造を持ち、アゾベンゼンを含む疎水性コアを有することが明らかになりました (図 2c-e)。

得られた AzSAP ナノファイバーと、Dex、PEG を混合し、攪拌することで Dex マイクロ液滴を作成しました。目視観察及び位相差顕微鏡観察^{注9)} によってマイクロ液滴の安定性を評価したところ、AzSAP ファイバーを含まない Dex マイクロ液滴は、短時間 (15 分以内) で融合しマクロ相分離に至ったのに対し (図 3a,c)、AzSAP ファイバーを添加したサンプルでは、融合が抑制され、24 時間以上も安定に Dex マイクロ液滴が維持されました (図 3b,d)。さらに、Dex マイクロ液滴に紫外線を照射し、AzSAP 中のアゾベンゼン基の異性化を誘起したところ、光照射された部分において、Dex マイクロ液滴が速やかに融合することが観察されました (図 3e-i)。

本研究グループが開発した、マイクロ液滴の安定化と操作を可能にした流体材料を、ウイルス感染の定量分析デバイスへ応用しました。感染マーカーである DDAO ガラクトシダーゼ分子の共存下で、Dex マイクロ液滴中に M13 ファージウイルスとその宿主細胞である大腸菌を封入しました。マイクロ液滴内で感染させることで、増殖後のファージウイルスの二次感染が抑えられ、感染を示す蛍光を発する Dex マイクロ液滴の数は、M13 ファージの初期濃度に比例すると考えられます (図 4a)。実際、共焦点顕微鏡観察^{注10)} (図 4b-e)、及びフローサイトメトリー (図 4f) によって蛍光 Dex マイクロ液滴の数を計測したところ、ファージウイルスの濃度に依存して増加したことから、開発した流体材料をウイルスの定量検出に利用可能であることが確認されました。重要なことに、その感度は従来のプラークアッセイ法と比較して 10 倍以上であり、測定時間も大幅に短縮することができます。従来法を大きく上回る、ウイルス感染能の超高感度迅速検出を可能にする新技術「マイクロフローアッセイ法」の開発に成功しました。

今後の展開: 本研究において、マイクロ液滴を長時間分散した新しい全水系の流体材料の開発に成功しました。この流体材料を用いることで、マイクロ液滴内でウイルス感染を誘導し、感染能を超高感度に定量解析できる新しい検出デバイスを実現しました。ウイルスの高感度定量法として、ウイルスの核酸量を評価する PCR 法が広く用いられています。しかし、PCR 法では失活したウイルスも検出するため、感染能の正確な高感度定量に適用することが困難です。本研究で開発した新技術「マイクロフローアッセイ法」は、ウイルスの感染能を高い感度で定量的かつ迅速に検出することができる点に革新性があり、食品や医療分野でのウイルス検査への応用が可能です。今後、対象ウイルスや検出プローブを拡張することで、検査、診断、品質管理に適用可能な次世代検出デバイスとしての実用化が期待されます。

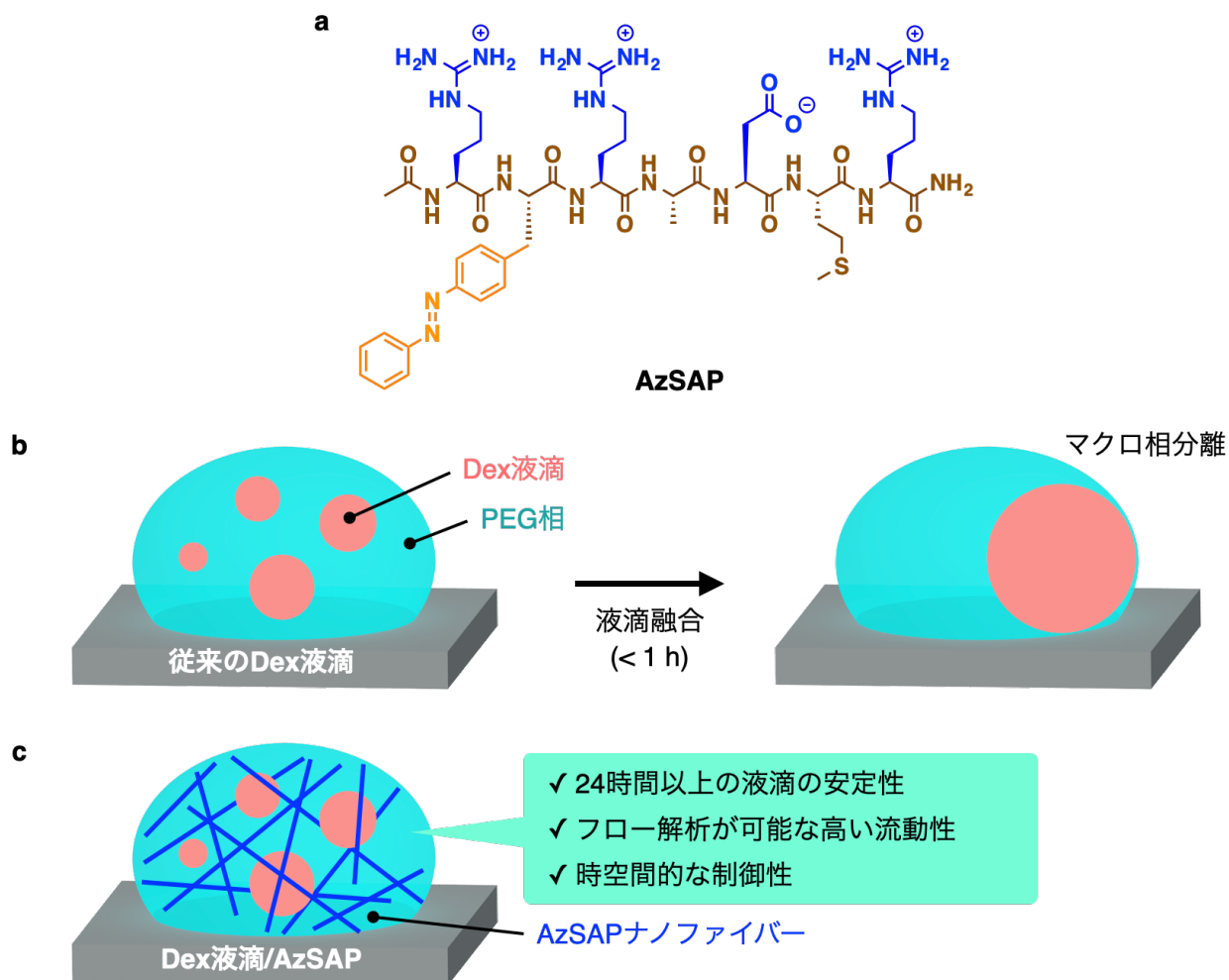
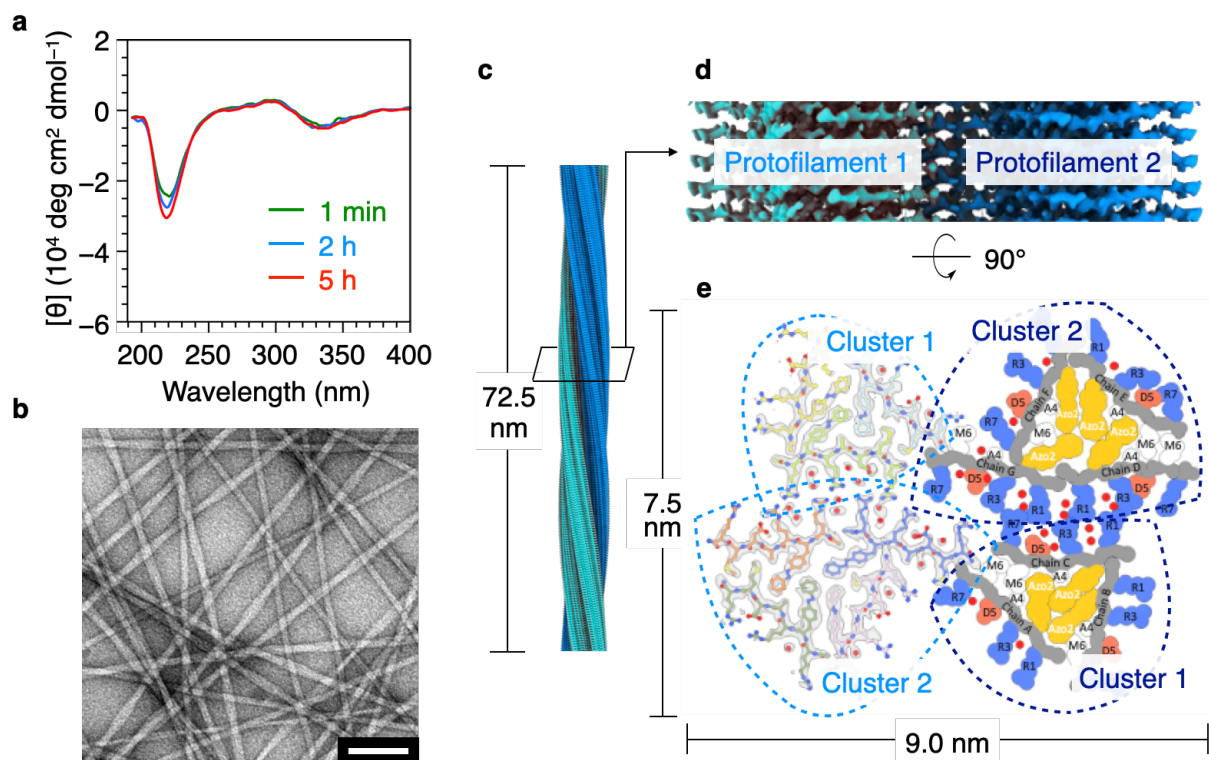


図 1 (a) AzSAP の分子構造。

(b,c) 不安定な従来の Dex 液滴(b)と、安定性、流動性、時空間的な制御性を兼ね備えた Dex 液滴/AzSAP システム(c)の比較。

Dex/PEG のマイクロ液滴に対して AzSAP を添加すると、系中でナノファイバーを形成し、安定性、流動性、時空間制御性を持った Dex 液滴が形成される。(図は Nature Communications より改変)



**図 2 (a,b) AzSAP ファイバーの CD スペクトル(a)と TEM 画像(b)。スケールバー: 100 nm。
(c-e) Cryo-EM によって得られた AzSAP ファイバーの立体構造(c,d)と断面図 (e)。**

AzSAP ファイバーは水中で β シートを形成しながらナノファイバーへと自己集合する。Cryo-EM 解析により、AzSAP はアゾベンゼンの疎水性コア (図 2 (e) の黄色部分) を持つ 3 量体と 4 量体のクラスターが各 2 つずつ集合した 14 量体の断面を形成し、その積層によりナノファイバーが形成されていることが明らかになった。巨視的なファイバー構造における繰り返し単位は 72.5 nm であった。(図は Nature Communications より改変)

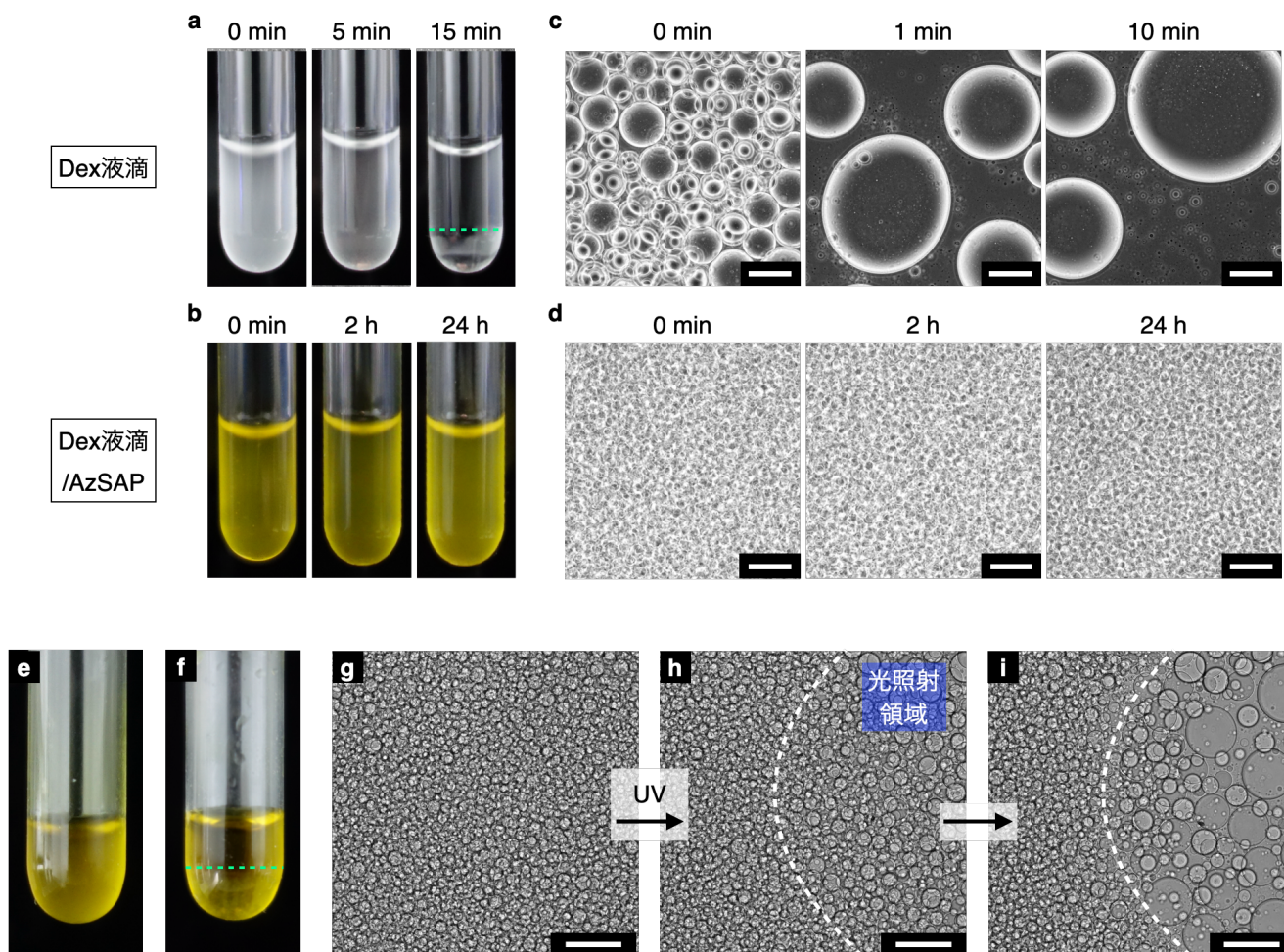


図3 (a,c) Dex 液滴の時間経過における目視観察(a)、及び位相差顕微鏡画像(c)。
 (b,d) Dex 液滴/AzSAP の時間経過における目視観察(b)、及び位相差顕微鏡画像(d)。
 (e-i) Dex 液滴/AzSAP の UV 照射前後における目視観察(e,f)、及び位相差顕微鏡画像(g-i)。
 スケールバー: 100 μm 。

水系二相分離系において Dex 液滴は融合によりマクロ相分離を起こすのに対して、AzSAP で安定化された Dex 液滴は長時間に及び安定化すると共に、光刺激を利用した時空間的な融合制御が可能になる。(図は Nature Communications より改変)

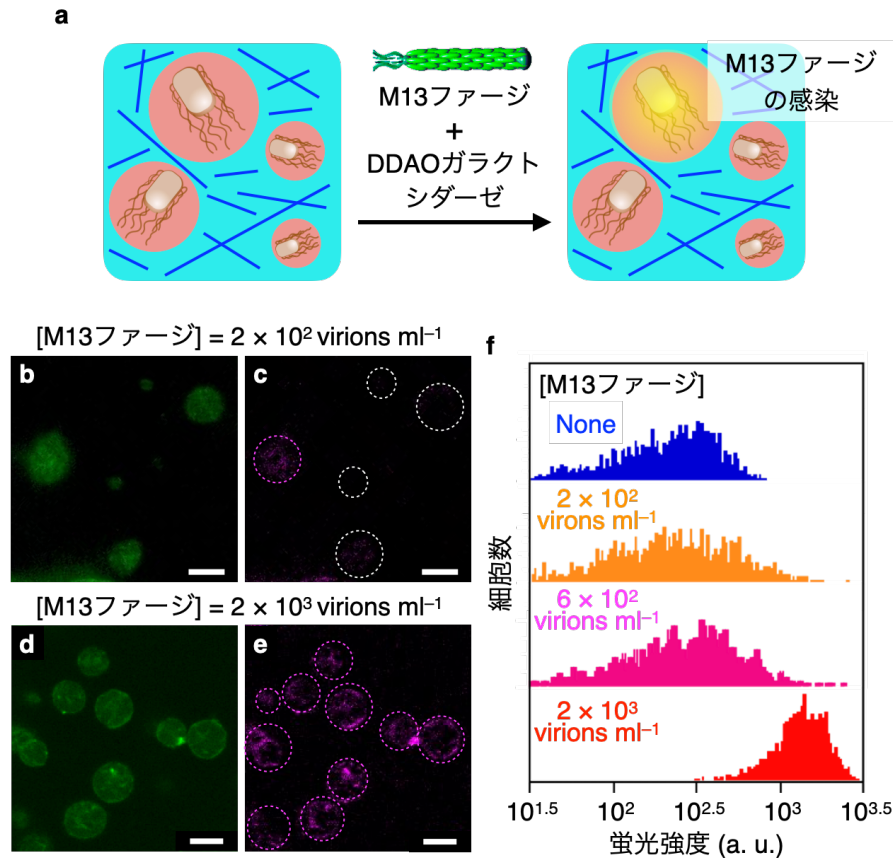


図 4 (a) Dex 液滴/AzSAP を用いた感染検出の概念図。

(b–e) 添加した M13 ファージ濃度 (2×10^2 , 2×10^3 virions ml⁻¹) に依存した、Dex 液滴 (b,d, $\lambda_{\text{ex}} = 488$ nm、緑) と感染マーカーである DDAO ガラクトシダーゼ (c,e, $\lambda_{\text{ex}} = 638$ nm、マゼンタ) の共焦点顕微鏡画像。スケールバー: 10 μm 。

(f) フローサイトメトリー解析による M13 ファージ濃度 (2×10^2 – 2×10^3 virions ml⁻¹) に依存した蛍光プロファイル。

Dex 液滴/AzSAP に M13 ファージと大腸菌を封入するとマイクロ液滴内でのみ感染が起こる。このため、感染の蛍光マーカーである DDAO ガラクトシダーゼの共存下では、添加ファージ濃度に依存した数の液滴が観察され、共焦点顕微鏡やフローサイトメトリーにより解析することで、高感度検出に応用することができる。(図は Nature Communications より改変)

用語解説:

注 1) M13 ファージウイルス

大腸菌に感染する糸状の細菌感染ウイルスの一種。一本鎖 DNA をゲノムとして持ち、宿主細胞を破壊することなく増殖できる。

注 2) フローサイトメトリー解析

細胞や微粒子を液体中に分散させて一列に流し、レーザー光を照射することで、散乱光や蛍光シグナルを測定し、それぞれの粒子の物理的・生物学的特性を高速かつ定量的に解析する手法。

注 3) 二次感染

一度ウイルスに感染した後、別の病原体に新たに感染すること。

注 4) マクロ相分離

混ざり合っていた物質が、肉眼でも区別できる大きさの異なる領域に分かれる現象。

注 5) 光異性化

分子が特定の波長の光を吸収することで、化学組成を変えことなく異なる立体構造へ変化する現象。

注 6) β シート構造

タンパク質の二次構造の一つで、 β ストランドが複数並び、水素結合によってシート状になった構造。

注 7) 円偏光二色性 (CD) 測定

右回り円偏光と左回り円偏光の吸収の違いを測定する分光法。特にタンパク質や核酸の立体構造を調べるためによく使われる。

注 8) 透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察

試料に電子線を透過させ、その透過した電子を利用して試料内部の微細構造を観察する方法。光学顕微鏡よりもはるかに高い分解能を持ち、ナノメートル (nm) レベルの構造を観察できる。

注 9) 位相差顕微鏡観察

透明で染色していない試料に光を当てた際に生じる光の位相の違いを明暗のコントラストとして可視化する観察方法。

注 10) 共焦点顕微鏡観察

レーザー光を 1 点ずつ走査し、焦点面だけの光を検出することで、高解像度の試料の断層画像を取得する観察方法。

◆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
応用化学部門 教授
村岡 貴博(むらおか たかひろ)

◆報道に関する問い合わせ◆

東京農工大学 総務課広報室

科学技術振興機構 広報課

横浜市立大学 総務課広報担当

学校法人北里研究所 広報室

東京大学 大学院工学系研究科 広報室

東北大学 学際科学フロンティア研究所 企画部

徳島大学先端酵素学研究所事務室

◆JST 事業に関する問い合わせ◆

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ
沖代 美保(おきしろ みほ)