

ドージンニュース

2021 No.176

SSN 0385-1516

エクソソーム

一総 説一

エクソソームにかかる期待と エクソソーム研究の難しさ

東京医科大学 吉岡 祐亮

一注目の研究一

細胞外小胞を介した細胞間 コミュニケーションの可視化

株式会社同仁化学研究所 清野 涼







表紙撮影:熊本県阿蘇郡高森町 ラクダ山 野焼き

野焼きは早春の阿蘇路風物詩ともなっ ております。春の彼岸ごろ、風のおだ やかな日を選んで冬枯れの原野に火が

つけられる。

photo:永島俊介氏

CONTENTS

Review

エクソソームにかかる期待とエクソソーム研究の難しさ ●—[1] 東京医科大学 吉岡 祐亮

Topics on Chemistry

細胞外小胞を介した細胞間コミュニケーションの可視化 ●──[6] 株式会社同仁化学研究所 清野 涼

Commercial

エクソソーム染色キット ● [5] 細胞内代謝関連製品 ● [8] _____[11] 細胞機能解析用試薬 一覧冊子のご案内 ●─ ホームページー部リニューアルのご案内 ● [11] 新製品 エンドサイトーシス検出試薬 ●─── グルコース細胞内取り込み検出キット ●──── ROS 検出キット ● [11] 関連製品 バイオフィルム形成量・形成阻害測定キット、 バイオフィルム薬剤効果測定キット ● ────[13] 開発中 シスチン細胞内取り込みアッセイキット ● [12] -[12] アミノ酸細胞内取り込みアッセイキット ●── バイオフィルム試験片用キット ● [13]

お知らせ

出版物のご案内 ●────[5]
細胞機能解析用試薬 一覧冊子改訂のご案内 ●────[11]
ホームページ 一部リニューアルのご案内 ●───[11]

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。



エクソソームにかかる期待とエクソソーム研究の難しさ Hope for Exosomes and Problems in Exosome Research



吉岡 祐亮 東京医科大学 医学総合研究所 講師

Abstract

Exosome research has been one of the hottest research fields in the last decade. Exosomes have changed the conventional concept of cell-to-cell communication and have been found to be involved in many biological phenomena. Furthermore, many researchers have entered the field of exosome research, and knowledge has been rapidly accumulated. In this paper, we will discuss the research difficulties and problems of exosome research and the benefits that exosomes bring to our life.

はじめに

現在、エクソソームと呼ばれる細胞外小胞が注目を集めている。もう少し、正確に言うと、10年ほど前から現在に至るまで注目されている。研究の世界で10年以上注目されて、一つの研究分野としてトレンドを作っていれば、ライフサイエンス研究界の"トップアイドル"と言っても良いだろう。このトップアイドルはアカデミアのみならず大手試薬会社や機器会社、製薬会社、食品会社など様々な産業分野の企業にも影響を与えている。したがつて、最近ではエクソソームを用いた臨床応用や化粧品、食品などの産業応用に関する日本語総説もたくさん見かける。このような総説を見慣れた方も多いと思われるので、本稿では通常の総説とは少し異なる視点から、このトップアイドルに寄せられる期待とその実態、そしてその扱いの難しさという点を概説したい。

1. エクソソーム研究の歴史

エクソソームというものが有名になり、多くの研究者・学生に 認知されてきているとは言え、その基本情報、特にエクソソーム に関する歴史を中心にもう一度確認してみる。

1.1. エクソソーム研究のはじまりとは?

エクソソーム研究のはじまりは少し不明瞭であり、60年代後 半から70年代とすることもあるが、これらの研究は現在でいう エクソソームという言葉の定義から外れている場合が多く、おそ らく現在で言う microvesicle に近いものであろう。したがって、 エクソソーム研究のはじまりは 1980 年代とされることが多い。 1983 年に Johnstone らが脂質二重膜構造を有する 100 nm ほど の小胞が細胞から分泌されることを発見したことに始まった 1)。 その後、1986年と1987年に発表された論文内で、その小胞が 再び「Exosome」と呼ばれて、エクソソームという呼び名が定 着していった^{2,3)}。ちなみに、上記で"再び"としたのは、 Exosome という言葉自体が初めて用いられたのは 1981 年であ る⁴⁾。しかし、このエクソソームというのは microvesicle を指し ていた可能性が高く、今で言うエクソソームとは異なっている可 能性がある。以上のような背景から、エクソソーム発見の論文と して引用されやすいのは Johnstone らのグループが発表した 1983年1) もしくは 1987年3) の論文であるが、研究者によって、 引用する論文が異なっており、エクソソーム研究の源流を紐解く のは、やや難解である。また、このエクソソーム研究を理解する

のに障壁となっているのが、細胞が分泌する小胞はエクソソーム 以外にも存在しているということが挙げられる 5)。エクソソーム の定義として、1980年代に行われた研究から、エンドソームに 由来する膜小胞と定義付けられている。もう少し詳細を述べる と、後期エンドソームである multivesicular body (MVB) にエ クソソームの前駆体らしき微小小胞が存在することが分かり (ILV, intraluminal membrane vesicle)、その細胞小器官を multivesicular endosomes (MVEs) と名付け、それら MVEs が 細胞膜と融合し、分泌されているのが観察された。もちろん、観 察結果はスナップショットであるため、これら結果を繋ぎ合わせ てエクソソームの分泌過程が考えられたわけである⁵。しかし、 エンドソームに由来しない細胞外小胞も存在しており、その代表 例として、細胞膜に直接由来する microvesicle や細胞死の際に 断片化した核などが細胞膜に内包され、分泌されるアポトーシス 小体(apoptotic body)などがある。これら細胞外小胞はエクソ ソームと比較して大きさに違いがあるとされているが、分泌過程 による定義付けがあるにも関わらず、分泌されてしまうと分泌過 程に関しては見分けが付きにくく、60年代~80年代の研究にお いてはエクソソームと microvesicle やアポトーシス小体が混同 されている場合がある。また、その大きさについて、きっちりと 範囲が定められているわけではなく、研究者によっても小さい方 は 40 nm ~と表記する場合もあるし、50 nm ~と表記する場合 もある。大きい方では~150 nm や~200 nm ということもあ る。もちろん、この範囲を 1 nm でも超えたらエクソソームでは ないのか、というとそういうわけではなく、この大きさの定義も エクソソームをややこしくしている一因である。さらに、80年 代はエクソソームの役割も細胞が放出するゴミ袋として、細胞 内、細胞膜の余分なタンパク質を細胞外に捨てることだと考えら れていた3。80年代までのエクソソーム研究を読み解くと、現 在、トップアイドルの座にいることが信じられないほど、あまり 注目もされない、小さな劇場からのスタートであったことが分か

1.2. ブレイクのきっかけは?

前述したように、エクソソームは細胞の不要物を排出するゴミ袋だと考えられていた時代は、あまり注目されなかったが、いくつかブレイクのきっかけとなる研究成果があった。大まかに言えば、細胞間コミュニケーションツールとしての役割を持つことが

判明したことがブレイクのきっかけとなっている。これらは何か -つの大きな報告で、説明できるものではなく、多くの研究成果 の積み重ねの結果ではあるが、いくつかマイルストーンとなる研 究があるので紹介する。一つは 1996 年に Raposo 博士らのグ ループの報告である⁶⁾。この報告は免疫細胞を用いて行った研究 で、エクソソームは他の細胞に対して機能を持つ小胞顆粒である ことが示されている。つまり、エクソソームが他の細胞に影響を 与えることが示され、ただのゴミ袋ではなく、細胞間でのコミュ ニケーションツールとして機能しうることが示され、徐々にエク ソソームに対する見方が見直されるきつかけとなっている。ま た、エクソソームの持つ魅力は、多様な内包物にある。多様な内 包物が多彩な生理現象や機能を担うのだが、2000年代は構成分 子の同定が盛んに行われた。2000年前後にはプロテオーム解析 の技術が普及し始め、エクソソームに含まれるタンパク質が解析 されるようになり、今では一般的となっている CD9 や熱ショッ クタンパク質ファミリー、インテグリンファミリーがエクソソー ムに含まれることが明らかになった 7,8)。さらに、タンパク質の みならず核酸、とくに microRNA (miRNA) がエクソソームに含 まれることを Jan Lötvall 博士らのグループが報告すると、エク ソソームへの注目度がより増した⁹⁾。これらエクソソーム中の miRNA がエクソソーム受容細胞において機能することが判明し、

細胞間コミュニケーションの新たな概念を打ち出されると 10~12、 ついにトップアイドルの座に駆け上がった。その後のエクソソーム研究の流れやエクソソームの活躍ぶりなどは最近の多くの総説などでまとめられているので、そちらを参考にして頂きたい。

2. エクソソーム研究のダークサイド

近年のエクソソーム研究において、エクソソームというものが、いかに素晴らしいかという報告はたくさんある。しかし、実際は研究をするために色々と乗り越えないといけない点が多く存在している。本項ではエクソソーム研究を行う際に問題となりうる点を列挙し、その理由を挙げてみる(図 1)。

(1)エクソソームの回収方法およびエクソソームであることの証明

基本的なこととなるが、培養上清および体液などからエクソソームを回収し、それらエクソソームを解析する、という実験の流れが多くの研究で必要となってくる。しかし、この回収作業自体、色々な方法が存在しており、多くの研究者を悩ませるポイントとなっている。結論から言うとベストな方法がないので、その実験や目的にあったベターな回収方法を選択しているというのが現実である。例えば、一般的にエクソソームの回収量を上げよう

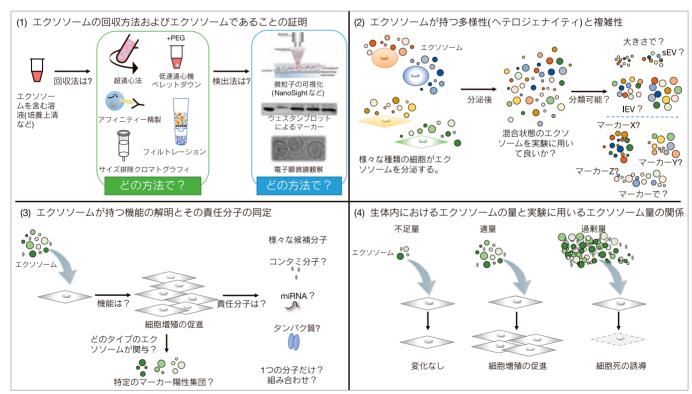


図1 エクソソーム研究の難点・問題点

エクソソーム研究における難点・問題点をまとめた。(1) エクソソームの回収方法およびエクソソームであることの証明。エクソソーム研究の基本として、エクソソーム回収実験と回収したエクソソームが、エクソソームであるための証明が必要である。それらは複数の選択肢があり、それぞれの状況や目的にあった方法を選択する必要がある。(2) エクソソームが持つ多様性(ヘテロジェナイティ)と複雑性。エクソソームはあらゆる細胞から分泌されるが、それぞれの細胞から分泌されるエクソソームはそれぞれ異なった機能や内包物を持つ。さらに同一の細胞からも多様なエクソソームが分泌される。しかし、ほとんどの研究において解析されているエクソソームはこれら混合状態のエクソソームを一緒くたに解析し、平均化された結果を見ている。これらを分類し、解析できることがエクソソームのヘテロジェナイティを明らかにする鍵となる。(3) エクソソームが持つ機能の解明とその責任分子の同定。エクソソームを細胞に添加し、エクソソームが持つ機能解析を行う場合、どのようなタイプのエクソソームが機能を担っているのか、もしくはエクソソームに由来しない、夾雑物による影響も考えられる。また、エクソソームは分子の複合体であり、その責任分子の候補はたくさん存在する。複合体であるために、1分子だけが機能発揮しているわけではなく、複数分子に起因することも考えられる。(4) 生体内におけるエクソソームの量と実験に用いるエクソソーム量の関係。実験に用いるエクソソームの量が少ない場合は、エクソソームの影響が観察されない場合があり、過剰量である場合は生体内では起こりえない現象が起こりうる。ただし、適切な量というのは決まった量があるわけではない。

表 エクソソームの回収方法

原理		特徴		
超遠心法	強い遠心力をかけることでエクソソームを沈殿させる。通常のペレットダウン法に加えて、密度で分離する密度勾配遠心法などもある。	現在、エクソソーム研究におけるエクソソーム回収法のスタンダードに なっている。エクソソームの回収効率、精製度、ともに完璧ではないが、 問題も少ない回収法。コストは比較的安い。		
低速遠心によるペ レットダウン	培養上清や様々な体液に試薬(ポリマー)を加え、 遠心機を用いてエクソソームを沈殿させることで 濃縮する方法。	遠心機のみでエクソソームを濃縮できる。操作も容易であり、多検体処理にも優れている。一方、原理的にあらゆるサイズや密度の小胞を回収している可能性があり、精製度も高くないが回収効率は良い。		
アフィニティー精製(免疫沈降法)	抗体などに磁気ビーズを結合させ、特定のタンパク質が表面に存在するエクソソームを捕捉し、マグネティックスタンドなどを使用して精製、回収する。抗体以外の物質(ペプチドなど)を使用することも可能。	エクソソーム膜表面に存在するタンパク質に対する抗体などを用いて、特定の集団を回収するため、興味のあるエクソソーム集団の解析などにも有用である。一方、免疫沈降前に何らかの方法でエクソソームを濃縮する必要があるなど、操作はやや煩雑である。精製度は高いものの、エクソソーム回収量は低くなる傾向にある。また、コストは比較的高くなりやすい。		
粒子のサイズによ る分画(フィルト レーション)	限外ろ過フィルターを使って高分子のエクソソームをフィルター上に留まらせて、小さなタンパク質はフィルターより下に落とす。いくつかのフィルターを使うことで特定のサイズの大きさを持つ粒子だけを分取することも可能。	サンプルを限外ろ過フィルターに通し、遠心などで 100 nm のサイズ粒子をフィルター上に残す。操作は容易く、一度に処理できるサンプル量も比較的多い。しかし、エクソソームが膜上に吸着し、ロスもしやすいのと、精製度はあまり良くない。		
サイズ排除クロマ トグラフィーカラ ム	担体を充填したカラムを用いて分子サイズでふるいにかける。小さい分子(タンパク質など)はポアに留まりやすいため、溶出が遅れるため、分子サイズの大きいエクソソームが先に溶出され分画することができる。	操作は簡便であり、精製度も高いが多検体処理にはあまり向いていない。サイズによるふるい分けを行うため、同じ大きさの顆粒が混入している場合は分離ができないが、夾雑タンパク質などとエクソソームの分離を行いやすい。溶出されるエクソソーム溶液はインプット溶液より希釈されるため、インブットのエクソソームを含む溶液の濃度を上げておく必要があるなど、手間がかかる場合もある。		

とすると、エクソソームの純度が低くなったり、逆に純度をあげ ようとすると回収量が減ったりするのが、エクソソーム回収方法 の現状である。したがって、どのような実験に使用するエクソ ソームが欲しいのか、つまり回収量を優先するのか、純度を優先 するのか念頭に入れる必要がある。さらに、純度 100%のエクソ ソームを手に入れるのはなかなか難しく、ある程度エクソソーム に由来しない物質のコンタミネーションを許容しなくてはいけな い。実は、エクソソームはとても扱いにくいアイドルということ になる。大まかであるが、回収方法について表を作成したので、 そちらを参考にして頂きたい (表)。また、回収してきたエクソ ソームがエクソソームであるのかを確認する方法も多様であり、 こちらの選択も悩ましい。細胞程度の大きさがあれば、顕微鏡下 ですぐにその存在を確認することができるが、エクソソームの場 合は細胞の 100 倍以上小さいので通常の光学顕微鏡で確認する というのは難しい。そこで、一般的には電子顕微鏡を用いて形態 的な観察から脂質二重膜微粒子を確認する方法やエクソソーム マーカーと言われている、エクソソームに濃縮されているだろう タンパク質などを指標にして、その存在を確認する場合がある。 近年では、NanoSight や gNano などの微粒子の数や大きさを簡 易的に測定できる機器もよく用いられている。ただし、これらは 微粒子であれば検出してしまう、つまり、大きなタンパク質凝集 体なども検出してしまうので、エクソソームに特異的な検出方法 ではないことに留意する必要がある。会いにいけるアイドル、に はほど遠く、なかなかその存在を確認するのにも苦労するのであ る。

(2)エクソソームが持つ多様性(ヘテロジェナイティ)と複雑 性

エクソソーム研究を難しくしている要因の一つに、エクソソームが持つヘテロジェナイティがある。ここで言うヘテロジェナイティとは、エクソソームと一括りにしても、その大きさも内包物

も多彩である、ということである。例えば、同じ細胞株を培養し ていても、遺伝子の発現プロファイルが異なっているように、同 じ集団と認識していても、実は少しずつ異なる、ということに似 ている。そもそも、人が勝手に細胞外小胞を分類し、それぞれに 名前を付けたものに過ぎないから仕方ないことである。最近で は、細胞外小胞の中でも遠心分離のスピードでさらに細かく3 つに分類し、large EV(IEV)と small EV(sEV)、さらに sEV の中 でも特定のタンパク質で分類できることが報告され13)、われわ れが一括りにしていた " エクソソーム " には、やはりヘテロジェ ナイティがあることが報告されている。つまり、エクソソーム (とわれわれが呼んでいる微粒子) の内包物は一個一個異なって いる可能性が大きい。このようなヘテロジェナイティがあるとい うことは、私たちに見えているエクソソームは平均化された姿で あり、個々の特徴を捉えていないため、細胞からの本当のメッ セージを理解できない場合もあるだろう。このアイドル、実は大 きなグループとしてのエクソソームというのがあり、さらにそこ から大きさや特定のマーカータンパク質などで小さなグループに 分けていっても、またさらに個別に個性をもった粒子たちの集団 である。研究が進むにつれ、グループが増えたり、構成メンバー が増えるため、全てを把握し、理解するのにはかなりの労力が必 要であろう。しかも、それら個々のエクソソームを解析する技 術、すなわちシングルエクソソーム解析の技術は発展途上であ り、これら技術の向上が、より深いエクソソーム研究に繋がると 期待されている。

(3)エクソソームが持つ機能の解明とその責任分子の同定

エクソソーム研究の醍醐味の一つとして、エクソソームが持つ メッセージを読み解き、どのような機能を持つか明らかにするこ とが挙げられる。そして、その機能を果たす責任分子を同定する ことである。しかし、これが一筋縄ではいかない。その理由は上 記(1)と(2)も関係してくる。エクソソームの機能解析を行

うと、まずは、本当にエクソソームが関与している現象なのか? という質問が出てくる。身も蓋もないような質問のように聞こえ るが、実際にはかなりの割合でエクソソームではない、別の要素 で起こっている現象を見ている可能性がある。それは(1)でも 述べたようにエクソソームに由来しない物質も一緒に混入してき てしまい、それらエクソソーム以外の物質が引き起こした現象を 見ている可能性がある。実は、エクソソームの機能だと思ってい たものが、培地に添加したサイトカインがコンタミしてきたもの であった、という場合もある。また、エクソソームの特定の機能 に注目し、その機能を果たす責任分子の同定についても難しい点 がある。まずは、エクソソームは多種多様な分子の複合体である がゆえに、候補となる分子が多いという点が一つ挙げられる。注 目すべき分子はタンパク質なのか、miRNA なのか、または代謝 産物なのか、という選択から迫られ、さらに、その中から特定の 分子に辿り着くまでには、かなりの労力が必要となる。また、1 つの分子ではなく複数分子の関与から果たされている機能である 可能性も大いにあり得る。さらに、(2)で述べたようにエクソ ソームのヘテロジェナイティがあるため、回収してきたエクソ ソームの中で特定のエクソソームだけが持つ機能を見逃す可能性 が高いことも機能解析を難しくしている。個々のアイドルが持つ 特徴を分析する際、どのような要因が人気に繋がっているのか、 結論付けるの難しいのと似ているのだろうか。また、複数要因の 可能性もあり、一つ(ないし一人)に着目するべきではないのか もしれない。

(4)生体内におけるエクソソームの量と実験に用いるエクソソーム量の関係

そして、本稿で取り上げる最後のエクソソーム研究の難題は実 験に用いるエクソソームの量が適切であるかどうか、という問題 である。別の言い方をすれば、その実験に使用しているエクソ ソーム量は、本当に生体内のエクソソーム量を反映している量な のですか、ということである。例えば、in vitro の細胞培養系の 実験で 10,000 細胞に対して、1012 個のエクソソームを添加する 実験を行ったとする。細胞 1 個辺りでは 10° 個のエクソソームが 一気に添加されたことになる。仮に1個の細胞が24時間に分泌 するエクソソームの量が 1000 個だとすると、105 細胞が 1 日に 分泌する量を1個の細胞が受け取る計算になる。どう考えても アンバランスである。ただし、上記の数値はあくまで仮定であ り、エクソソームの分泌量などの正確な数値が不明であるが、1 細胞あたりの1日の分泌量を正確に測定する技術はなく、結局 のところ実験に使用した量が正解か不正解かも分からない状況で ある。さらに一気に高濃度のエクソソームに晒される状況は生体 内ではほとんどなく、通常は常に一定量のエクソソームを受け取 るチャンスがあると考えると、一度に大量のエクソソームを添加 する実験系も生体内の状況を反映していないだろう。マウスなど の動物を用いた投与実験でも同じようなことが言える。したがつ て、(3)で述べた機能解析の結果、実は生体内でそのような機 能は微々たるもので、エクソソームのオーバードーズによる副作 用のようなものを解析しているに過ぎない可能性もある。エクソ ソームというアイドル、本来は1人1枚購入すれば十分なCDを 1人が1000枚も購入している、というアンバランスな状況を生 み出しているのかもしれない。

3. エクソソーム研究の光明

エクソソーム研究の難題について述べたが、この難題をクリア した先には、私たちの生活を豊かにしてくれる可能性がある。エ クソソームに対する理解を深めることで様々な生命現象の解明に 役立つだけではなく、冒頭でも述べたが、医療・食品業界に変化 をもたらす可能性がある。エクソソームへの理解が深まることで 生命現象の解明に役立つと期待される理由は、37兆個もの細胞 が協働して私たちの生命を維持していることを考えれば、必ず細 胞間でのコミュニケーションツールが必要となり、そのコミュニ ケーションツールの一つにエクソソームがあるからである。ま た、疾患とはこれら細胞間のコミュニケーション不全などから引 き起こされるのであろう。実際、エクソソームが多くの疾患に関 与することが報告されている14)。また、エクソソームの役割を 逆手に取ることで疾患に対する治療や、エクソソームは疾患が発 するメッセージであることから、疾患の有無やその状態を知らせ るバイオマーカーになりうる。2019年には、オーストラリアで 血小板由来の細胞外小胞による安全性と創傷治癒効果を評価する 第1相臨床試験が始まった。これは Exopharm 社が持つ技術で血 小板由来の細胞外小胞を精製し(彼らは Plexaris™ と名付けてい る)、商品化されたものが被験者に投与されている。この臨床試 験では20人の被験者が、自身の血小板から精製されたエクソ ソームを投与され、創傷治癒効果が検証されている。他にも、 2020年2月には COVID-19 に対する治療を目的とした間葉系幹 細胞に由来するエクソソームを用いた臨床試験が中国で開始され た。この臨床試験では間葉系幹細胞エクソソームの吸入による重 症患者の肺炎抑制効果を検証している。このようにエクソソーム は様々な疾患に対する治療効果、特に抗炎症作用や再生医療に期 待が集まっており15,16)、実際に上記のようにエクソソームをヒ トへ投与する臨床試験も始まっている。このようにエクソソーム は私たちの生活に浸透してきており、身近に感じる機会が増えて きてた。お茶の間に浸透してこそトップアイドル、という感覚に 近いだろう。

4. おわりに

エクソソーム研究は 2010 年代から脚光を浴びている分野であり、この先も発展する分野だろう。なぜなら、上記のように、未知の部分や改善すべき点がまだ多く残されているため、"研究のやりがい"があるのと、やはり私たちの生活を豊かにする様々な可能性が見出されているためである。しかし、研究トレンドの移り変わりは激しく、ブームがいつ去るかは分からない。どの瞬間が人気絶頂のピークであるかは、過ぎ去ってからでないと分からないことが多く、いつまでエクソソームがトップアイドルとして君臨できるかは誰にも分からない。おそらく、技術的にも成熟し始の、臨床研究なども開始されてきたため、ここ数年が踏ん張り所であるだろう。そのためにも"量"だけでなく"質"の良い研究が求められており、今後のエクソソーム研究の動向から目が離せない。エクソソームは過去のアイドル、と言われないためにも、エクソソーム研究の成果が社会に還元される日が来ることを期待している。

[参考文献]

- 1. B. T. Pan and R. M. Johnstone, *Cell*, **1983**, *33*(3), 967.
- 2. S. Kassis et al., Biochim. Biophys. Acta., 1986, 886(3), 474.
- R. M. Johnstone, M. Adam, J. R. Hammond, L. Orr and C. Turbide, J. Biol. Chem., 1987, 262(19), 9412.

- 4. E. G. Trams et al., Biochim. Biophys. Acta., 1981, 645(1), 63.
- 5. G. Raposo and W. Stoorvogel, J. Cell Biol., 2013, 200, 373.
- 6. G. Raposo et al., J. Exp. Med., 1996, 183(3), 1161.
- 7. C. Théry et al., J. Cell Biol., 1999, 147(3), 599.
- 8. C. Théry et al., J. Immunol., 2001, 166(12), 7309.
- 9. H. Valadi et al., Nat. Cell Biol., 2007, 9(6), 654.
- 10. N. Kosaka et al., J. Biol. Chem., 2010, 285(23), 17442.
- 11. D. M. Pegtel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107(14), 6328.
- 12. Y. Zhang et al., Mol. Cell, 2010, 39(1), 133.
- 13. J. Kowal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2016, 113(8), 968.
- 14. M. Yáñez-Mó et al., J. Extracell Vesicles, 2015, 4, 27066.
- 15. J. Phan et al., J. Extracell Vesicles, 2018, 7(1), 1522236.
- 16. K. Khalai et al., J. Extracell Vesicles, 2020, 9(1), 1795365.

[著者プロフィール]

氏名:吉岡 祐亮 (YOSHIOKA Yusuke)

所属:東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門

〒 160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1

教育研究棟 13 階

Tel: 03-3342-6111 (内線 67136)

Fax: 03-6302-0265

E-mail: yyoshiok@tokyo-med.ac.jp

出身学校:早稲田大学 学位:博士(理学)

専門分野:分子腫瘍学、分子生理学

現在の研究テーマ:エクソソームが関与する病態メカニズムの解明、エクソソームを用いたバイオマーカーおよび治療薬の開発

出版物のご案内



本総説の吉岡祐亮先生と落谷孝広先生の編による実験ガイドが発売されました。エクソソーム実験の基本的な手技、サンプルや目的に応じたプロトコールの紹介、実験のコツなどエクソソーム研究を進められている方、これから研究を始める方に手元に置いておきたいぴったりのガイドです。

実験医学別冊 最強のステップ UP シリーズ

決定版エクソソーム実験ガイド

世界に通用するプロトコールで高精度なデータを得る! 吉岡祐亮,落谷孝広/編

2020年9月30日発行B5判199ページ

ISBN 978-4-7581-2246-7

エクソソーム染色キット

ExoSparkler シリーズは、精製されたエクソソームの膜または タンパク質を染色し、細胞に取り込まれるエクソソームをイメー ジングすることができます。

細胞外で凝集しない



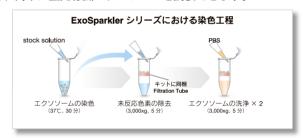
ExoSparkler (紫) と他社製品 P (緑) で細胞への取り込みを共染色で観察したところ、製品 P では色素の凝集が疑われる蛍光輝点が観察された。

/組変冬件\

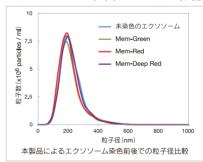
本キット: Ex 640 nm / Em 640-760 nm 製品 P: Ex 488 nm / Em 490-540 nm

蛍光標識から精製までこのキットでできる

エクソソームの標識に最適化したプロトコルに加え、標識後の 未反応色素を除去できるフィルトレーションチューブ (同梱) で、簡単に蛍光標識エクソソームを調製できます。



エクソソームの性質にほとんど影響しない



ExoSparkler で染色前後のエクソソームをNTA(ナノ粒子トラッキング解析)とゼータ電位を測定した結果、エクソソームの性質にほとんど影響を及ぼさないことが確認された。

製品の詳細や他社製品と比較した実験例などは、 小社 HP をご覧ください。

エクソソーム 同仁 検索

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green	5 samples	25,000	EX01
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Red	5 samples	25,000	EX02
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red	5 samples	25,000	EX03
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green	5 samples	20,000	EX04
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Red	5 samples	20,000	EX05
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Deep Red	5 samples	20,000	EX06

Topics on Chemistry

細胞外小胞を介した細胞間コミュニケーションの可視化

株式会社同仁化学研究所 清野 涼

近年、細胞から分泌される細胞外小胞(Extracellular vesicle: EV)が細胞間のコミュニケーションに重要な役割を担っており、 生体内環境の調節や病態進展に関与していることが明らかとなり つつある。EV の一種であるエクソソームの内部には分泌した細 胞の核酸(microRNA等)やタンパク質等が内包されており、実 際にエクソソームを介して受け取り側の細胞に伝達され影響を与 えていることが報告されている 1)。中でも、がんの悪性化や薬剤 耐性の獲得にエクソソームが促進的に寄与することが明らかとな り、がん研究の分野で大きな注目を浴びている^{2,3,4)}。Patelら は膵臓がん細胞が自身の分泌するエクソソームを介して活性酸素 種(ROS)を消去する酵素である SOD やカタラーゼの発現を亢 進させゲムシタビンに対する耐性を獲得していることを見出して いる3。さらには、オキサリプラチン耐性大腸がん細胞の分泌す るエクソソームが非耐性がん細胞の解糖系を亢進(グルコース取 り込み量や乳酸、ATP 産生の増加) させ、薬剤耐性がん細胞へと 変異させることが報告されている40。このようにエクソソームに 代表される EV は自身が内包する伝達物質を介して様々な細胞機 能変化を惹起することから、EV の受け渡しを詳細に解析するこ とが様々な病態の解明につながる可能性を秘めている。

研究の進展に合わせて、EV の伝達をイメージングする様々な解析手法が開発されてきた。最も一般的な手法は EV の脂質二重膜を染める蛍光色素を用いた標識技術であり、精製後の EV と混合するだけで簡便に蛍光標識が可能である。一方で、標識後の色素を除くことで生じるサンプルの口スや色素同士の凝集でミセルを形成するといった問題点があるため注意を要する。in vivo でのより高感度な解析が可能な発光法を利用した解析手法も多くの研究者が報告している 5.6.7 。これらの手法はいずれも EV 指向性タンパク質と発光レポータータンパク質ルシフェラーゼの融合タンパク質を EV 産生細胞に発現させることで EV を標識しており、これらルシフェラーゼ標識 EV を用いて体内分布の解析にも成功している。これらの手法に加え、EV 内包物の受け手側への伝達を解析する手法も報告されている。

これまでの EV による情報伝達を解析する方法としては①標識 EV の取り込み+②受け手側の表現型変化を確認することで間接 的に評価するケースが多く、実際に取り込まれた EV からの内包 物放出を直接確認することは困難であった。Somiya らはこの課題を克服するために、ルシフェラーゼ断片(LgBiT)とそれに結合するペプチドタグ(HiBiT)を組み合わせた EV cargo delivery (EVCD) assay を開発した 8 0。 EVCD assay ではまず EV 産生細胞に EV 内包タンパク質と HiBiT tag の融合タンパク質を発現させ、HiBiT 標識 EV を作成する。この HiBiT 標識 EV を LgBiT 発現細胞に添加することで、EV より放出された HiBiT tag 融合タンパク質と細胞質中の LgBiT が結合し、内包物の放出を発光で検出することが可能となる(図 1 参照)。この方法を用いて、Somiya らは EV 内包物の放出が通常条件下ではほとんど起こら



図1 EVCD assay 概略図

ないこと、また EV 表面に膜融合を促進するタンパク質 (Vesicular stomatitis virus glycoprotein; VSV-G) を修飾することで細胞質中への内包物の放出が促進されることを見出しており、これまで不明な部分が多かった EV 内包物の放出機構の一端を明らかとしている。

本稿では、EV を介した細胞間コミュニケーションやその研究の進展に伴い開発されてきた様々な解析手法に関して紹介してきた。これらの手法はそれぞれ特徴を有しているため、実験の目的に合った最適な標識手法を選択することが EV を介した細胞間コミュニケーションを正しく理解する上で重要である。今後も EV 研究の発展につれて様々な解析手法が生み出され、それによって EV を介した生命現象が解明されていくことが期待される。

[参考文献]

- H. Valadi et al., Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells, Nat. Cell. Biol., 2007, 9, 654-659.
- A. Zomer et al., In Vivo imaging reveals extracellular vesicle-mediated phenocopying of metastatic behavior, Cell, 2015, 161, 1046-1057.
- G. K. Patel et al., Exosomes confer chemoresistance to pancreatic cancer cells by promoting ROS detoxification and miR-155-mediated suppression of key gemcitabine-metabolising enzyme, DCK, Br. J. Cancer, 2017, 116, 609-619.
- X. Wang et al., Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer, Mol. Oncol., 2020, 14, 539-555.
- Y. Takahashi et al., Visualization and in vivo tracking of the exosomes of murine melanoma B16-BL6 cells in mice after intravenous injection, J. Biotechnol. 2013. 165. 77-84.
- C. P. Lai et al., Dynamic Biodistribution of Extracellular Vesicles in Vivo Using a Multimodal Imaging Reporter, ACS Nano., 2014, 8, 483-494.
- T. Hikita et al., Sensitive and rapid quantification of exosomes by fusing luciferase to exosome marker proteins, Sci. Rep., 2018, 8, 14035.
- M. Somiya and S. Kuroda, Real-time luminescence assay for cytoplasmic cargo delivery of extracellular vesicles, bioRxiv, doi; 10.1101/2020.10.16. 341974.

	蛍光色素標識法	ルシフェラーゼ標識法	EVCD assay
特徴	・簡便に標識でき、EVの取り込みを検出 ・サンブルロスや色素同士の凝集に注意	·in vivoでも高感度にEVの取り込みを検出 ・標識EVの作成に遺伝子導入が必要	・EV内包物の放出を検出 ・遺伝子導入が必要 (EV産生細胞+受け取る細胞)
代表的な試薬 および 標識EV等	・PKH,Dil, ExoSparkler Membrane Dyes等 の脂質二重膜染色試薬	・ルシフェラーゼ-lactadherin標識EV ⁵⁾ ・ルシフェラーゼ-CD63標識EV ⁷⁾	・HiBiT-EPN-01標識EV+LgBiT発現細胞 ⁶⁾

図 2 代表的な EV 伝達の解析手法

新製品

エンドサイトーシス検出試薬

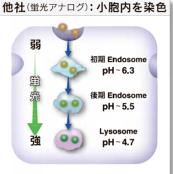
ECGreen-Endocytosis Detection

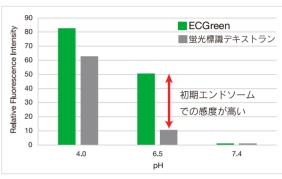
く特長>

- ・より正確にエンドサイトーシスを可視化できる
- ・生細胞でエンドサイトーシスを追跡できる
- ·pH 変化に対する応答性が高い

ECGreen-Endocytosis Detection は小胞膜に局在し、pH に依存して蛍光を発する試薬で、蛍光アナログよりも直接的にエンドサイトーシスを可視化することができます。また、本品は従来用いられてきた蛍光標識デキストランと比較して、pH 変化に対する応答性に優れています。そのため、初期エンドソームも高感度に検出することが可能です。





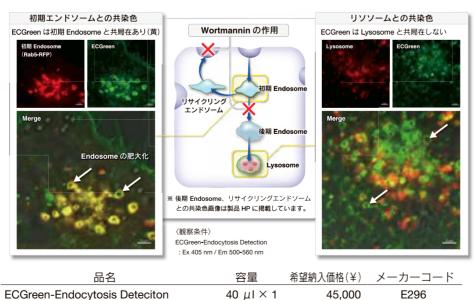


染色原理の模式図

各試薬の pH に対する蛍光強度変化

<実験例:細胞内小胞輸送系を鮮明に可視化>

Wortmannin はエンドソームのリサイクリングやリソソームへの移行を阻害し、エンドソームの肥大化を引き起こすことが知られています。Wortmannin によるこれらの変化を ECGreen と初期エンドソームマーカータンパク質 Rab5-RFP(蛍光タンパク質)との共染色、および ECGreen とリソソーム染色試薬との共染色で確認しました。その結果、Wortmannin 添加時には ECGreen は肥大化したエンドソーム(Rab5-RFP)と共局在(左図:Merge)し、リソソームとは共局在しない(右図:Merge)ことが確認できました。これらの結果から、ECGreen は細胞内小胞輸送系の変化を可視化できることがわかりました。



%<使用回数の目安> 40 μ I あたり、35 mm dish 20 枚、 μ -Slide 8 well 20 枚

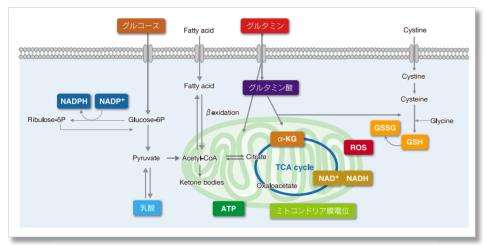
製品の詳細や他社製品と比較した実験例などは、小社 HP をご覧ください。

エンドソーム 同仁

検索

細胞内代謝関連製品

細胞内の代謝システムである、解糖系や TCA 回路、ペントース - リン酸経路の解析は、細胞状態を理解する上で重要であり、グルコースや乳酸、NAD(P)+/NAD(P) H などのエネルギーおよび代謝産物を指標に評価されています。



〈学ぶコンテンツ〉

がんや糖尿病などの各疾患における代謝指標の変化を、学術情報と併せてご紹介しています。





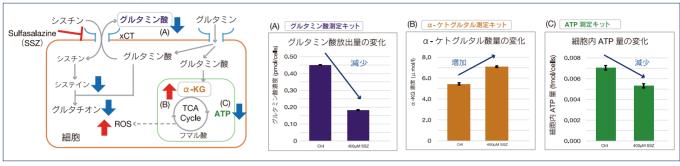
くはじめてでも簡単な操作>

はじめて代謝を評価される方々のご要望にお応えし、測定に必要な試薬やコンポーネントを同梱。より使い易い操作性を実現しました。

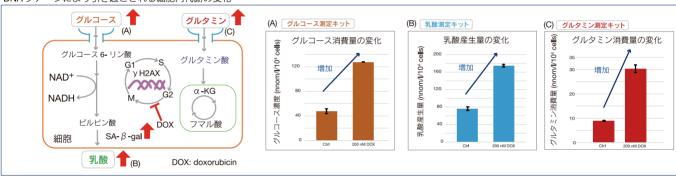
測定指標	検出	操作			
グルコース 乳酸 グルタミン グルタミン酸 NAD/NADH NADP/NADPH	比色	培養上清をプレートに移し発色試薬と混合するだけ 自養上清を添加 発色試薬添加 第2000 取外度測定 (450 nm) キット同梱の除タンパク質チューブ*と細胞溶解バッファーにより前処理が簡便 NAD (P) H の測り分け			
АТР	発光	** グルタミン、グルタミン酸、NAD(P)/NAD(P) H に同梱しています。 キット同梱の ATP 標準試薬と小容量のラインナップにより、手軽に試せる 解析 2 分震とう 10 分 インキュペーション サンブル溶液添加 発色試薬添加			
α-ケトグルタル酸	蛍光	既存品の課題であるバラつきを低減した操作 解析 細胞の洗浄、溶解 反応試薬添加 無限の洗浄、溶解 反応試薬添加			

<代謝関連製品群を使用した実験例>

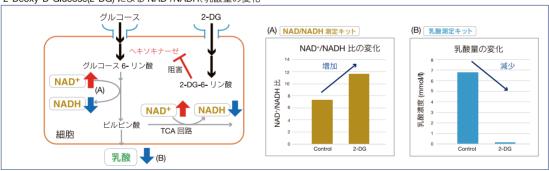
xCT 阻害による酸化ストレス誘導による変化



DNA ダメージにより引き起こされる細胞内代謝の変化



2-Deoxy-D-Glucose(2-DG) による NAD+/NADH、乳酸量の変化



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Glucose Assay Kit-WST	50 tests 200 tests	18,000 38,000	G264
Lactate Assay Kit-WST	50 tests 200 tests	29,000 68,000	L256
NAD/NADH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N509
NADP/NADPH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N510
Glutamine Assay Kit-WST	100 tests	55,000	G268
Glutamate Assay Kit-WST	100 tests	50,000	G269
α-Ketoglutarate Assay Kit-Fluorometric	100 tests	64,000	K261
ATP Assay Kit-Luminescence	50 tests 200 tests	25,000 45,000	A550

新製品

グルコース細胞内取り込み検出キット

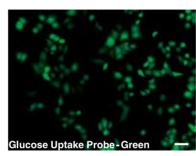
Glucose Uptake Assay Kit-Green

細胞の重要なエネルギー源であるグルコースの細胞内取り込み能力は、細胞の代謝活性の指標の一つとして利用されています。グルコースの細胞内取り込みを蛍光イメージングする試薬として、2-NBDG が広く用いられていますが、蛍光が弱く、感度が低いという課題がありました。そこで小社では高感度にグルコースの細胞内取り込みを可視化できる新規の蛍光プローブ Glucose Uptake Probe-Green を開発しました。このプローブは 2-NBDG に比べ蛍光が強く、グルコースの細胞内取り込みを明瞭にイメージングすることができます。またプレートリーダーやフローサイトメーターを用いた測定も可能です。さらに小社が開発した Washing and Imaging (WI) solution を用いることで細胞からのプローブの漏出を抑制することができ、再現性の高いデータを取得することが可能となりました。

くグルコースの細胞内取り込みの可視化>



※測定に最適化した Washing and Imaging (WI) Solution を用いることで細胞からのプローブの漏れ出しを抑制できます。



細胞:A549

使用培地:DMEM(0 mmol/l Glucose) 染色条件:Glucose Uptake Probe-Green

37℃, 15 min 検出装置:蛍光顕微鏡

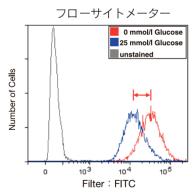
快出装直:宝光顕微鏡 フィルターセット:

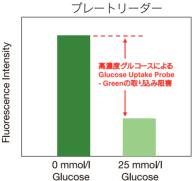
GFP (Ex: 470/40 nm, Em: 525/50 nm)

スケールバー: 50 μm

<高濃度グルコースによる競合阻害>

Glucose Uptake Probe-Green とグルコースとの競合阻害実験を行った結果、高濃度(25 mmol/I)グルコース下では、Glucose Uptake Probe-Green の細胞内取り込みは阻害された。このことから、Glucose Uptaka Probe-Green は、グルコーストランスポーターを介し細胞内に取り込まれていることが分かる。





細胞: Δ549

使用培地: DMEM (0 or 25 mmol/l Glucose)

染色条件: Glucose Uptake Probe-Green, 37℃, 15 min 検出装置: フローサイトメーター(検出: FITC フィルター) プレートリーダー(検出: Ex / Em = 488 / 520 nm)

<インスリンによる脂肪細胞のグルコース取り込み促進>

Insulin
0 µmol/l
1 µmol/l

インスリンによる脂肪細胞のグルコース取り込み能の促進を Glucose Uptake Probe-Green を用いて蛍光観察した。

細胞: mouse adipocyte

使用培地:DMEM(5.5 mmol/l Glucose, serum free)

刺激条件:1 μmol/l insulin / DMEM(5.5 mmol/l Glucose, serum free), 37℃, 15 min

染色条件:Glucose Uptake Probe-Green, 37℃, 15 min 検出装置:蛍光顕微鏡

快山衣屋・虫兀蜈愀野

GFP (Ex: 470/40 nm, Em: 525/50 nm)

スケールバー : 50 μm

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Glucose Uptake Assay Kit-Green	1 set	38,000	UP02

※〈使用回数の目安〉96 well プレート 1 枚分

新製品

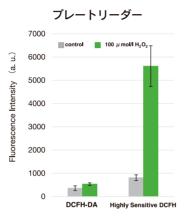
ROS 検出キット

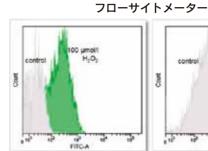
ROS Assay Kit -Highly Sensitive DCFH-DA-

本製品は ROS(Reactive Oxygen Species)を蛍光プレートリーダー、蛍光顕微鏡、もしくはフローサイトメーターを使って蛍光法により検出するキットです。一般的に ROS を検出するキットの蛍光基質は ROS により酸化されることで発蛍光する DCFH-DA が使用されていますが、本キットに含まれる蛍光基質は細胞膜透過性を向上させた構造を有しており、DCFH-DA と比較して高感度に ROS を検出することができます。また、DCFH-DA と同等の蛍光波長を有することから DCFH-DA と同じ検出器やフィルターを使用することができます。

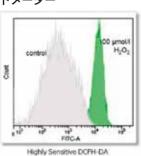
蛍光顕微鏡DCFH-DA Highly Sensitive DCFH-DA

DCFH-DAとの検出感度比較(HeLa 細胞) ※Highly Sensitive DCFH-DAの観察条件で比較





DCFH-DA



〈細胞種〉

contro

00 μ mol/l H₂O₃

HeLa 細胞, 10,000 cells/well

〈試薬濃度〉

DCFH-DA, 本キット共に 10 µmol/l

〈反応条件〉

100 µmol/l H₂O₂/HBSS を添加後、37℃, 30 min インキュベート

〈測定条件〉

- ・蛍光顕微鏡(GFP フィルター)
- 露光時間 0.13 s ・マイクロプレートリーダー
- ・マイクロフレートリー Ex/Em: 490/530 nm
- ・フローサイトメーター
- FITC Filter

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
ROS Assay Kit -Highly Sensitive DCFH-DA	100 tests	18,000	R252
		※<使用回数の目安>	96 well プレート 1 枚分

細胞機能解析用試薬 一覧冊子改訂のご案内

細胞内代謝、ミトコンドリア解析用試薬などの関連製品を一冊に 集約した冊子をリニューアル致し ました。

【掲載製品群】

細胞内代謝、オートファジー、細胞老化、ミトコンドリア、細胞増殖・細胞毒性

試薬パンフレット 同仁

検索



ホームページ 一部リニューアルのご案内

小社製品群の「抗体・タンパク質標識キット」のページをリニューアル致しました。

- ・実験条件から最適な標識キットを選択できる選択ガイド
- ・製品ページにキットの特長を掲載

目的から製品を選ぶ

 条件を選択してください

 サンブル:
 すべて 抗体 抗体 または それ以外のタンパク質

 解析方法:
 すべて 顕微鏡 FCM ウエスタンブロット

 様識対象:
 すべて 蛍光色素 ピオチン 蛍光タンパク質

抗体標識選び方の同仁

検索

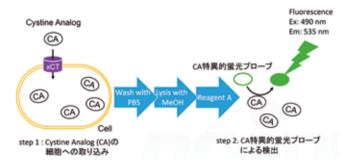
開発中

シスチン細胞内取り込みアッセイキット

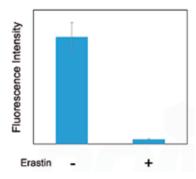
Cystine Uptake Assay Kit

シスチン・グルタミン酸トランスポーター(xCT)は、主に細 胞外液のシスチンと細胞内のグルタミン酸を1対1で交換輸送 するアミノ酸トランスポーターです。xCT を介して取り込まれ たシスチンは、抗酸化物質であるグルタチオンの原料として利用 され、細胞内の酸化ストレス応答に重要な働きをしています。近 年 xCT は、がん、神経変性疾患、免疫との関連で注目されてい ます。特にがん幹細胞において xCT が高発現していることが分 かり、xCT 阻害剤は新たながん治療薬として期待されています。 そこで小社ではシスチン類似体(Cystine Analog: CA)を用いた 新規のxCT活性測定法を開発しました。このCAは、シスチン と同様に xCT を経由して細胞内に取り込まれ、CA と特異的に反 応する蛍光プローブを用いることで検出することが可能です。本 キットは細胞のシスチン取り込み能力の測定だけでなくマイクロ プレートを用いた多検体処理が可能なため、薬剤スクリーニング 等にも有用です。

<測定原理>



くエラスチンを用いたシスチン取り込み阻害実験>



細胞:HeLa 測定: プレートリーダー 励起波長: 490 nm 蛍光波長: 535 nm

開発中

アミノ酸細胞内取り込みアッセイキット

Amino Acid Uptake Assay Kit

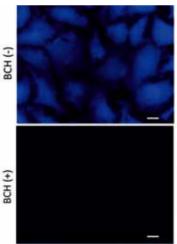
必須アミノ酸を取り込む大型中性アミノ酸トランスポーター (LAT)は、がん細胞や活性化した免疫細胞において発現が亢進 していることが知られています。特に、LAT はがん研究におい て、新規バイオマーカー及び治療ターゲットのひとつとして期待 されています。

そこで、小社では大型中性アミノ酸類似体であるホウ素アミノ 酸(boronophenylalanine: BPA)を用いた新規のアミノ酸取り 込み能力測定法を開発しました。BPA は、大型中性アミノ酸と 同様に LAT を経由して細胞内に取り込まれ、BPA と特異的に反 応する蛍光プローブ(Staining Dye)を用いることで検出するこ とが可能です。本技術は蛍光イメージング、プレートリーダー測 定、フローサイトメーター測定に使用できます。

<測定原理>



< LAT 阻害剤 BCH を用いたアミノ酸取り込み阻害実験>



細胞:HeLa 使用培地:HBSS 薬剤:1 mmol/I BCH 検出装置: 蛍光顕微鏡 フィルターセット: DAPI (Ex 360/40 nm, Em 460/50 nm) スケールバー: 20 μm

BCH: 2-aminobicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylic acid

本情報以外に、測定意義・測定例を動画で公開しています。 本技術についてご興味やご意見を頂けますと幸いです。



開発中

バイオフィルム試験片用キット

Biofilm TestPiece Assay Kit

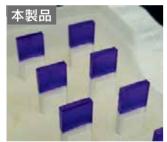
く特長>

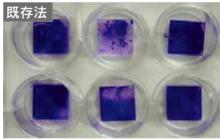
- ・試験片からバイオフィルムの剥離を最小限に抑えることができる
- ・浸清面積が均一なので再現性の良いデータが取得できる
- ・多検体をまとめて簡便に処理することができる(最大 24 片)

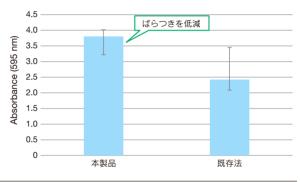
バイオフィルムは医療器具内の細菌汚染やう蝕・歯周病の感染の要因とされ、医科領域や歯科領域など様々な分野で問題視されています。そのため、抗バイオフィルム活性を有する素材の開発や薬剤の探索が注目を集めています。Biofilm TestPiece Assay Kit は任意の素材(試験片)を付属のデバイスに取り付け、試験片に触れることなくバイオフィルム形成能の評価を行うことができます。

く従来法との比較>

既存法ではバイオフィルムの剥離や形成むらが見られるのに対して、本製品では試験片が均一に培養液に浸漬されるため、むらのないバイオフィルムが形成されました。また、バイオフィルムを形成した試験片をエタノールに抽出後、プレートリーダーで測定(595 nm) した結果、従来法よりもバラツキの少ない結果が得られました。







※クリスタルバイオレット染色後の試験片

関連製品

バイオフィルム形成量・形成阻害測定キット、バイオフィルム薬剤効果測定キット

Biofilm Formation Assay Kit Biofilm Viability Assay Kit

く特長>

- ・測定の手間を大幅に低減
- バラツキを抑えることが可能

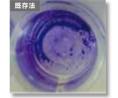
詳しいキットの説明は 小社 HP をご覧ください。

バイオフィルム 同仁

検索

既存法はマイクロプレートの底にバイオフィルムを形成するため、菌の培養に伴う培地交換や、染色工程前後の洗浄作業に多くの 手間を要し、バラツキの問題がありました。本キットは蓋に固定されたピン上にバイオフィルムを形成させるため、培地交換や染色 工程が蓋を移すだけで完了し、操作が非常に簡便です。



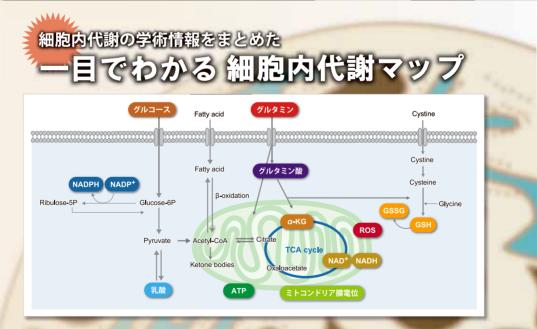




品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Biofilm Formation Assay Kit	100 tests	16,300	B601
Biofilm Viability Assay Kit	100 tests	18,700	B603

※本ページの製品(開発中含む)は、福岡工業技術センター生物食品研究所との共同開発品です。





ホームページアドレス

URL: https://www.dojindo.co.jp/ E-mail: info@dojindo.co.jp フリーファックス フリーダイヤル 0120-021557 0120-489548

(受付時間:平日9:00~17:00 土・日・祝日は除く



ドージンニュース No.176 令和3年3月8日発行 株式会社同仁化学研究所 DOJINDO LABORATORIES 熊本県上益城郡益城町田原2025-5〒861-2202 発行責任者 松野寛明 編集責任者 岩永竜弥 年4回発行 許可なくコピーを禁ず