



ドージンニュース

2025 No.195

ISSN 0385-1516

エクソソーム

総説

エクソソーム研究の現在地：ブームは過ぎ去ったのか？

東京医科大学 吉岡 祐亮

連載

生命科学の最前線～タイ王国研究者の現場から～②

The Stealthy Factor: sfRNA Orchestrates Infection

Mahidol University Sarin Chimnaronk

注目の研究

細胞外小胞研究の課題と技術的進展

株式会社同仁化学研究所 稲垣 瑞希

新製品

組織用鉄イオン測定キット P.9

組織用ミトコンドリア分画キット P.10

ミトコンドリア Complex I 活性測定キット P.11

開発中

エクソソーム精製キット P.16



CONTENTS

Review

エクソソーム研究の現在地：ブームは過ぎ去ったのか？

Where Exosome Research Stands: Has the Boom Run Its Course?

東京医科大学 吉岡 祐亮

1

Topics on Chemistry

細胞外小胞研究の課題と技術的進展

株式会社同仁化学研究所 稲垣 瑞希

5

連載

生命科学の最前線～タイ王国研究者の現場から～②

The Stealthy Factor: sfRNA Orchestrates Infection

Mahidol University Sarin Chimnaronk

12

Commercial

関連製品

エクソソーム精製キット・キット用フィルター	6
エクソソーム染色キット	7
エンドサイトーシス検出試薬	8

新製品

組織用鉄イオン測定キット	9
組織用ミトコンドリア分画キット	10
ミトコンドリア Complex I 活性測定キット	11

開発中

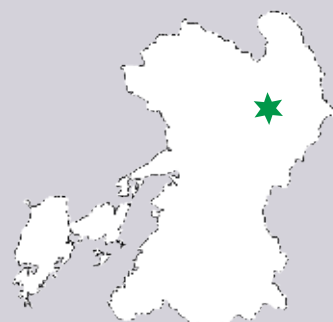
エクソソーム精製キット	16
-------------	----

お役立ち

代謝物分析のご案内 - 同仁グローバル	17
フォーラム・イン・ドージン開催後記	18



表紙：阿蘇郡南阿蘇村
中郷天満宮
photo：永島俊介氏



X(旧ツイッター)

小社製品の最新情報や使用文献などを投稿しています。



フォロー
お願いします

@dojindoinfo

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。

※記載価格は本誌発行時における希望納入価格です。

予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。

※掲載製品は試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

エクソソーム研究の現在地：ブームは過ぎ去ったのか？

Where Exosome Research Stands: Has the Boom Run Its Course?



吉岡 祐亮

東京医科大学
医学総合研究所
分子細胞治療研究部門
講師

Abstract

This article asks where the “exosome boom,” reported to have begun after 2010, now stands. The boom has persisted while changing shape. One notable shift is ISEV’s consolidation of terminology through the MISEV series: calling everything “exosome” without reflection is now discouraged, and extracellular vesicles (EVs) are adopted as the basic term. Building on this housekeeping, the article revisits the boom through numbers — publication output and journal indicators — and through likely “exits” into practice, namely diagnostics, therapeutics, and research tools. Taken together, these perspectives outline the boom’s trajectory and pinpoint the field’s current position.

1. はじめに

「祇園精舎の鐘の声、諸行無常の響きあり。」

中学や高校で一度は耳にしたことがあるこの一節は、どんなに勢いのあるものも、やがては衰えていくという「盛者必衰」の道理を示している。この“盛者必衰”の理は、研究の世界にも当てはまる。あるテーマが突如脚光を浴び、関連論文が次々と発表されるが、数年もすれば熱は冷め、関心は別の分野へと移っていく。とはいえ、それは単なる衰退ではなく、むしろ、その分野が一定の成熟を迎えた証とも言える。筆者は5年ほど前、このDOJIN NEWS (No.176) でエクソソーム研究について執筆する機会を得た¹⁾。そこで、エクソソームをアイドルになぞらえて解説し、「研究トレンドの移り変わりは激しく、エクソソーム研究のブームがいつまで続くかは分からない」と締めくくった。今回、ありがたいことに再び執筆の機会を得たことで、その“答え合わせ”をする場を与えられたとも言える。本稿では、エクソソーム研究のブームがその後どうなったのか、現在の立ち位置を確認してみたい。

2. エクソソーム研究改め EV 研究へ

「はじめに」では、あえて「エクソソーム」という言葉を使った。実は前回の執筆時も、「EV (extracellular vesicle)」と表記すべきかどうか、悩んだ記憶がある（もちろん、EV はエクソソームの別名ではなく、エクソソームを含む細胞外小胞の総称であることは理解していた）。英語論文の世界ではすでに「EV」ないし「EVs」という表現が一般的になっていし、自身の研究においても当然のように使っていた。それでもあえて「エクソソーム」と記したのは、DOJIN NEWS という媒体の性格を考慮してのことだった。耳馴染みがあり、広く知られていたのはやはり「エクソソーム」の方であり、その言葉のほうが読者に伝わりやすいと感じたからだ。とはいえ、いま改めて当時の文章を見返すと、やや曖昧な表現だったようにも感じる。国際細胞外小胞学会 (ISEV) は、2011 年の設立以降、EV 研究の再現性と用語の統一を主導してきた国際学会である。MISEV シリーズの第3版にあたる MISEV2023 は、2014 年 (第1版) と 2018 年 (第2版) を踏まえ、EV 研究の記載法や用語選択、報告すべき最低限情報を整理したガイドライン (推奨事項) だ²⁾⁻⁴⁾。法的・制度的な拘束力はないものの、国際的なコンセンサス文書として広く参照されている。近年は、このガイドラインの影響もあって、EV という用語の使い方や定義について、より厳密で透明性の高い記述が期

待されるようになった。以上を踏まえ、本稿では表記を「EV」に統一する。根拠は、MISEV2023 が示す記載原則と、国際的な用語標準化の流れにある。以下では、「EV」が指す範囲とその使い方を、あらためて整理しておきたい。

3. 今こそ理解する EV の定義と呼び方

名前は最小の広告だ。アイドルでもバンドでも、グループ名の由来や意味がたびたび取り上げられるのは、名付けが未来の方向を決めるからだ。ときに改名ひとつで風向きが変わることもある。研究も同じで、遺伝子名のエピソードを見れば、ネーミングの重みはすぐ分かる。では、EV の呼び方と表記を、いまの基準である MISEV2023 に合わせて整理してみよう。

EV は、細胞から細胞外へ放出される自己複製不可能な膜小胞の総称である。含まれるのは、起源が実証されたときに exosome と呼ぶエンドソーム由来の小胞、細胞膜由来で ectosome と呼ぶ小胞 (従来 “microvesicle” と総称されてきたことが多かったが、MISEV2023 では混乱を招くため非推奨となった)、そしてプログラム細胞死に伴って放出される apoptotic body などである。当時は読みやすさを優先して「エクソソーム」と総称していた場面もあったが、いまは定義上の区別を意識しておきたい。起源の厳密な識別が難しい場面が多いため、まずは総称としての「EV」を基本とし、必要に応じてサイズ・起源・分子標識などの操作的修飾語で限定する。例えば、サイズについては small/large のような便宜的表現を用いる場合でも、固定語 “sEV” の常用は避け、必ず測定法としきい値やサイズレンジを添える (例: 「EV (NTA 推定: モード粒径 120 nm)」 「EV (NTA 推定: 50–150 nm に富む)」 のように書く)。起源であれば plasma membrane-derived EV (=ectosome) のように記し、エンドソーム由来を実証できる場合に限って exosome を使う。分子標識なら CD63⁺/CD81⁺ EV や TSG101⁺ EV のように、カテゴリの異なる複数指標を並べて、解釈を支える。分離法で限定する表現も実務的で、SEC-EV、density-gradient EV、immunocapture EV といった書き方ができる。ただし方法名 = 純度保証ではないことは明記しておきたい。さらに、細胞種や条件を添えるなら platelet EV、tumor-cell-derived EV、hypoxic EV のように、由来や状態を素直に書くことよい。要は、EV という表記に“手がかりを足す”ことだ。無理のない範囲で、測定法+閾値/レンジ、由来、主要マーカー、分離法、条件などを添える。これだけで、読者が同じ像を思い描きやすくなる。もちろん、方法名やマーカーは純度の保証

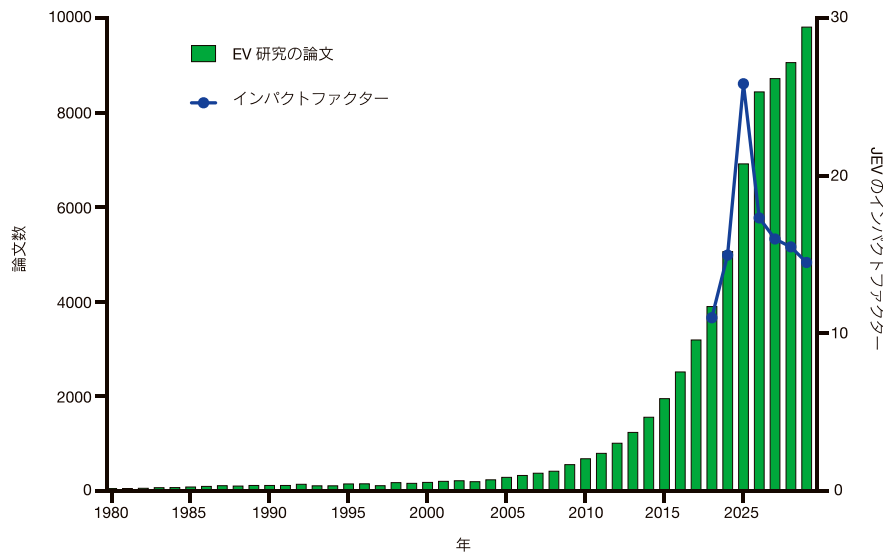


図1 EV研究に関する論文数とJEVのJIF推移

PubMedでEV関連論文を年次集計（1980-2024）。検索語：exosomes OR exosome OR “extracellular vesicles” OR “extracellular vesicle”（OR条件、総説を含む）。併せてJournal of Extracellular VesiclesのJIF（Journal Citation Reports掲載値）を表示。データ取得：2025年9月。

そのものではない。それでも、情報を付加する姿勢が再現性と比較可能性を底上げする、これがMISEV2023の狙いである。ちなみに、MISEV2023は、EVより一段広い概念としてEP(extracellular particles)を置いている。EPは大きく、膜で包まれた粒子=vesicular EPと、膜を持たない粒子=non-vesicular EP(NVEP)に分かれる。ここで言うEVは「細胞が自ら分泌した膜小胞」を指し、vesicular EPの中でも自然由来の小胞にあたる。一方、細胞膜を機械的に処理して得たcell-derived vesiclesや、合成脂質から作るsynthetic vesiclesのような人工小胞は、vesicular EPに属するがEVには含めない。NVEPには、リポ蛋白やタンパク質複合体、Asymmetric Flow Field-Flow Fractionationなどの分画で報告されてきた“exomere”のような非小胞性粒子が入る。ISEVはこの整理により、しばしば議論的だったexomereを、EVではなくNVEPに位置つけた。

EV界隈の景色は、某アイドルの“姉妹グループ”が増える過程に少し似ている。最初は「エクソソーム」というメインユニットがセンターに立っていたが、やがてEV、ectosome、NVEPといったサブユニットが増え、呼び名も役割も細分化された。姉妹グループが増えてファンが分散するのと同じく、呼称の増殖は熱気の分散に見える。また、追いかける側の負荷も上がり、一部のコアな層しか残らず、ライト層は薄くなっていく現象が見えるかもしれない。だがサイエンスはショービジネスとは違うだろう。分散は人気取りの終わりではなく、定義の解像度を上げるための必然である。MISEV2023によるEVの定義細分化は、ブーム終焉を意味しているのではなく、ここからさらに、新規参入者を迷わせないためのガイド役となるだろう。

4. 数値から見るEV研究

「ミリオンセラー」。かつてはCDが100万枚売ればメガヒットとされ、それを連発するアーティストがブームをつくった。つまり、数字はブームを測るわかりやすい指標のひとつだ。ここでは、EV研究の数字から、その動向を確かめていく。

研究分野の動向を可視化するには、まず論文数が分かりやすい。1980年から2024年までのEVおよびエクソソーム関連の論文（総説を含む）をPubMedで同義語を含めて（OR条件で）検索し、年次推移を図にした（検索語・条件は図キャプションに記載）（図1）。図が示すように、2010年前後から立ち上がり

急になり、2020年には2010年比で約10倍に達している。2020年代に入ってから急伸よりも高止まりに近いが、件数は高水準を維持している。なお、世界的に論文数は年々増加する傾向にあるため、対照としてがん領域でも同様に“Cancer” OR “Tumor”で検索し、2010年から2020年の増加率を概算したところ、2倍には満たなかった。この比較からも、EV関連の伸びが際立っていたことがうかがえる（ただし、がん領域は母集団が大きく、用語も多岐にわたるため、検索語の選択に依存する点には留意したい）。ただし、論文数はあくまで「どれだけ研究が出たか」を示す指標にすぎない。どれだけ響いたかを見に行くなら、別の物差しが要る。

研究のインパクトを測るのは、正直むずかしい。一般には、影響力の大きいジャーナルに掲載された研究は注目を集めやすいと受け止められる（いわゆる“ネームバリュー”の効果だ）。これを数値で近似するものとして、インパクトファクター（JIF）やSCImago Journal Rank（SJR）などの雑誌指標がある。もちろん、JIFやSJRはジャーナル全体の指標であって、個々の論文の価値そのものではない。分野差や引用の偏りもある。その前提を踏まえ、EV研究がどの程度の存在感を持ってきたかを雑誌指標で概観する。総合誌の数字だけでは分野の盛り上がりを判断しにくい。ため、ここでは専門誌に焦点を当てたい。2011年創刊のJournal of Extracellular Vesicles（JEV）、その姉妹誌で2021年創刊のJournal of Extracellular Biology（JEB）、そして2020年創刊のExtracellular Vesicles and Circulating Nucleic Acids（EVCNA）の指標を手がかりにする。JEVにJIFが初めて付与されたのは2018年で11.000だった（図1）。ピークは2020年の25.841で、この上振れにはMISEV2018の大量被引用が大きく寄与したと見てよい。実際、JIF2020の分子となる「2020年に2018・2019年掲載論文が受けた被引用」は合計2,765件で、そのうちMISEV2018が1,061件（約4割）を占める。結果として2020年のJIFを力強く押し上げた。以後は水準が落ち着き、JIFはおおむね15前後で安定しており、基礎的な引用密度は依然として高い。なお、MISEV2023は2024年初頭の掲載なので、その影響が本格的に表れるのはJIF2025（=2025年の被引用/2023-2024年掲載）である。MISEV2023がJIFをどの程度影響を与えるかは、EV研究のブームを占う指標のひとつになるだろう。JEVの姉妹誌であるJEBは、まだJIFが付与されていない。ただ、

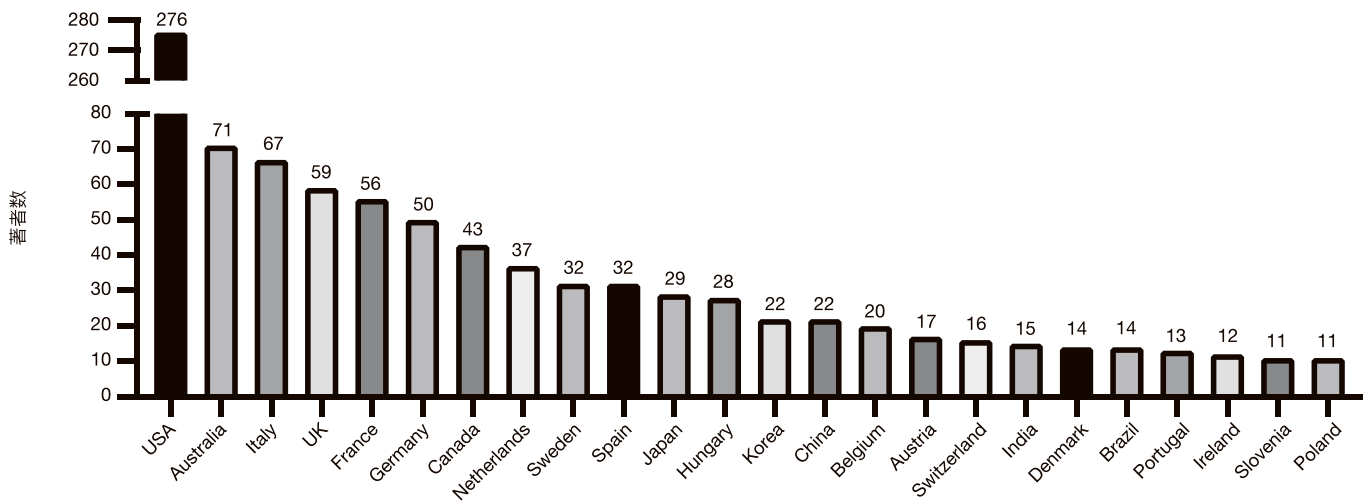


図2 MISEV2023の著者数：国別ランキング

10名以上の国を多い順に表示。集計は一次所属機関の国による。J. A. Welsh et al., *J. Extracell. Vesicles*, 2024, 13(2), e12416 の Table 1 を図化。

雑誌の勢いをざっくり見る CiteScore（直近4年の“1本あたり”平均被引用数）は4.1が付いている。CiteScoreに馴染みがない読者のために比較すると、JEVは25.9＝関連カテゴリ（例：Cell Biologyなど）で最上位帯（Q1）。一方でJEBの4.1は「真ん中より少し上」（おおむねQ2）くらいの位置づけとなる。言い換えれば、JEVだけでは拾いきれない論文の受け皿をJEBが広げている。しかも平均を超える水準は確保しており、EV研究の“層の厚さ”が数字にも表れている。そして、EVCNAには今年初めてJIFが付与され、4.8であった。また、CiteScoreは5.9で、位置づけとしては「真ん中より上」であろう。つまり、EV専門誌の受け皿は厚くなっており、トップ級のJEVに加え、JEBやEVCNAが“中の上”～“上位にかかる”帯を支え、平均を超える水準の論文が継続的に出ている。そもそもこの5年で新しい専門誌が2誌（EVCNA 2020、JEB 2021）も創刊されたこと自体、投稿先の幅が広がり、EV研究の勢いが続いていることを示している。

さらに、EV研究の勢いを測るために、ガイドラインであるMISEVシリーズに関する数字を確認しておきたい。いわば、この分野の“センター”に近い存在だ。センターの数字を見れば、全体の現在地がおおよそ掴める。まずはMISEVシリーズの引用件数、ついで著者数と参加国の広がりを押さえる。現時点（2025年9月9日）で、MISEV2014: 2,556件、MISEV2018: 8,182件、MISEV2023: 1,649件となり（いずれもWeb of Science [All Databases]）、まず目を引くのは2018版の強さで、刊行からの年数で割っても年あたり1,100件超のペースになる。2023版は掲載から約1年半しか経っていないが、年換算で約1,000件超えに相当し、立ち上がりは2018版に肩を並べる水準に乗っている。しかも、初期は引用の“掲載遅延”（引用した論文の刊行が追いつかない）が出やすいため、ここからもう一段、伸びが乗る余地は大きい。また、MISEVの執筆および刊行に関与した著者の数もEV研究の拡大を示す指標の一つになるだろう。2014年版は当時のISEV理事会メンバー中心の15名で執筆されたが、2018年版は382名へ一気に拡大。最新の2023年版はドラフト作成に74名が関わり、その後の著者確認サーベを経て、最終的な共同著者は1,051名に達した。これら1,051名は少なくとも53カ国にまたがり、国際的なガイドラインに相応しいものとなった。ちなみに、著者を国別で見ても、日本は第11位の29名、対してトップの米国は約10倍の276名が名を連ねる（図2）。日本のこの数字は研究規模を思えば控えめで、この開きは国際合

意の場での“声量”の差を映しているように思える。日本発のEV研究の声を、もう少し大きくしていきたい。話は脱線したが、このスケールの拡大は、単発のブームではなく、EV研究が分野として定着したことを示している。

さて、数字でEV研究の動向を見てきたが、10年以上前に、某アーティストがこんなことを言っていたのを覚えている。「某バンドが売ったのはCD、某アイドルグループが売ったのは握手券。いったいどうやってCDを売ったらいいのだろう」。研究分野でも、論文数やJIFの数値は目に見えて分かりやすい一方、あくまで目安にすぎないのかもしれない。時代が変われば“売り方”は変わる。それでも音楽を含むパフォーマンスの核は、聴く・観る人の心を動かせたかだ。研究も同じで、物差しや流通は変わっても、価値は、社会にどんな変化をもたらしたかにある。ただし、そこへ至る道は一本ではない。今日の私たちの生活に直結する成果もあれば、遠回りに見える基礎が十年後に役立つこともある。だからこそ、数は入口として丁寧に見つつ、次は研究の出口に目を向けたい。

5. EV研究の向かう先は？

グループに所属してブームに乗っているうちはいい。だが、卒業して看板を外し、ソロになってからも第一線に立ち続けられるかが実力だ。EV研究も同じで、論文数やJIFで“盛り”は示せたが、ここから問われるのは社会実装、つまり診断・治療・研究ツールとしてラボの外で通用するかどうかである。ブームを越えて何が残るのか、EV研究の「出口」を見ていく。

実は、「数字で見るEV研究」のもう一つは産業のサイズだ。BCC Research社の推計から、EVに関連する診断・治療・研究ツールの世界市場を図にまとめた（図3）。2026年・2028年の数値は、いずれも発表年から5年後を見据えた予測で、2023年時点の2028年予測は約13億米ドル（約2,000億円）となり、ここ数年は市場規模の拡大が続く見込みだ。つまり、EV研究のブームが商業的な期待へ確かに接続しつつある。伸びが見込まれる背景には、EV研究の成果が医療に応用しやすい性質がある。たとえば、リキッドバイオプシー（液体生検）におけるバイオマーカー源として、ドラッグデリバリーや生体由来製剤の治療手段として、そして既存のEVの分離・測定系やGood Manufacturing Practice (GMP; 医薬品の製造品質管理基準)・Chemistry, Manufacturing and Controls (CMC; 化学・製造・管理) といった製造・品質管理の枠組みと結びつけやすい点が挙げられる。市

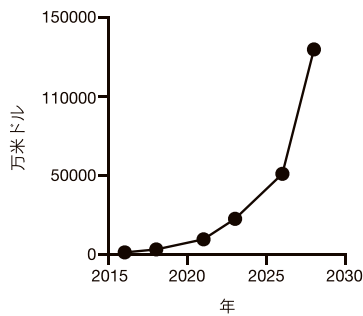


図3 EVの診断・治療・研究ツールの世界市場

EV関連市場は拡大基調にあり、2028年に13億米ドル（約2,000億円）と予測。グラフはBCC Researchによる調査結果を基に作成。

場規模はブームそのものの指標ではないが、EV研究が今どの「出口」に向けて前進しているかを映す補助線になる。それでは、実際の出口の状況を手短かに確認しておきたい。まずは診断分野から確認しよう。

診断（バイオマーカー）では、実用に近い例がすでに出ている。尿中EVを解析するExoDx Prostatは、米国のベンチャー企業Exosome Diagnostics社（現・Bio-Techneグループ）が開発した^{5),6)}。前立腺生検の実施判断を補助する非侵襲の検査として提供され、2019年にはFDAのBreakthrough Device指定も受けている。ここから見えるのは、“使える場面”が特定されればEV診断は動き出せるということだ。とはいえ、EV診断の臨床実装は道半ばだ。EVを用いた診断・バイオマーカー研究はPubMedで約1万報超（総説除く）に達する一方、診断を主目的とする臨床試験の登録は数百件規模にとどまる。さらに、現時点で薬事承認（IVD）まで到達したEV診断薬は主要当局でまだ確認できていない。要するに、研究の厚みに対して、前向き検証と規制到達とのあいだに段差が残る。次に、創業の現場での進み具合を見ておきたい。診断に比べると、創業は投与量・バイオディストリビューション・製造（GMP/CMC）という実装の壁が一段と高い。このため、Phase 3をクリアし主要当局で承認に到達したEV製剤は、現時点では確認できない。それでも、治療を目的とした臨床試験は欧米を中心に40～60件が走っており、ここから“決定打”が生まれる余地は十分ある。代表例として注目された改変型EVのexoSTINGは、米国のCodiak BioSciences社が開発した、腫瘍局所でのSTING活性化を狙うアプローチだったが^{7),8)}、臨床試験の途中で商業化に至らず失敗に終わった。一方、MSC由来の“善玉EV”をそのまま投与する路線は前に進んでおり⁹⁾、Direct Biologics社のExoFloは急性呼吸窮迫症候群（ARDS）を対象にPhase 3が進行中だ¹⁰⁾。承認という出口にはまだ届いていないものの、実装の有力候補として先頭を走る。総じて、診断は「使える場面」で動き出したが、標準医療として根づくには、検体・測定・判定の技術標準を固め、規制承認に至るまでの道のりがまだ要る。創業は二つの走路が並走しており、改変型（薬物搭載など）は現時点で出口に届いた決定例はなく（たとえばexoSTING）、天然型（MSC由来など）は規制面で壁が一段低いぶん、実装にやや近い位置にいる。もっとも、いずれも承認には未到達で、ブームの熱を持続へ変える鍵は、診断では標準化、創業では投与量・バイオディストリビューション・GMP/CMCの詰みにある。

ミリオンももちろんすごい。だが、その先に「この場面ならこの曲」と多くの人が思い浮かべる曲を生み出せるか、それが確かな出口かもしれない。EVも同じで、診断が標準医療として根づき、創業が承認に届き、多くの患者に届いて臨床を変えたとき、その出口は確かになる。

6. おわりに

本稿は、具体的なサイエンスの話よりも、EV研究を取り巻く現状とブームの行方を描くことに重心を置いた。サイエンスの細部は、ブームが長く続いたぶん優れた総説が十分に揃っている。そちらを読んでほしい。

その一方で、ブームの陰で気になる現実もある。美容クリニックなどの自由診療で見かける“EV点滴”や“エクソソーム療法”の類だ。現時点で承認されたEV製剤はない。由来は何か、どう作られ、何がどれだけ含まれ、どんな臨床データに支えられているのかなど、肝心な情報が見えない提供も少なくない。承認区分、由来と製法、品質・安全性の根拠、無菌管理、説明と同意。最低限このあたりが開示されていなければ、看板と中身がずれている可能性を疑うべきだ。日本細胞外小胞学会をはじめ、関連学会がこうした動きに対する注意喚起の声明や見解を公表している¹¹⁾。

出口は医療分野に限られない。健康食品や化粧品、素材の領域などでも、EVおよびEV様粒子の活用は着実に広がっている。例えば、スキンケアでは配合素材としての処方設計やバリア機能を意識した届け方の研究が進み、食品では植物由来の微粒子を使った成分の安定化や風味保持の工夫が試みられている。分野ごとに表示や規制のルールは異なるが、出自・製法・含有を正しく示し、過度な期待を煽らないことを守れば、健全な実装に近づく。EV研究のブームを支えるのは、縦の深化と分野横断の広がり、この両輪だ。アイドル・ポップからロック、ヒップホップ、レゲエ、クラシックまで、ジャンルをまたいで鳴らせる。EVはそんなマルチプレイヤーだ。

本稿冒頭の問いへの答えは、こうだ。ブームは続いている。ただし成熟は部分的で、基盤は整いつつあるが、社会実装という出口までにはもう一歩が要る。とはいえ、出口のかたちは複数見え始め、そのぶんブームは当分冷めそうにない。いつか、EVが究極のアイドルとなることを楽しみにしている。

[References]

- 1) 吉岡祐亮, ドージンニュース, **2021**, 176, 1-5.
- 2) J. Lötvall et al., *J. Extracell. Vesicles*, **2014**, 3, 26913.
- 3) C. Théry et al., *J. Extracell. Vesicles*, **2018**, 7(1), 1535750.
- 4) J. A. Welsh et al., *J. Extracell. Vesicles*, **2024**, 13(2), e12404.
- 5) R. Tutrone et al., *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, **2020**, 23(4), 607-614.
- 6) R. Tutrone et al., *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, **2023**, 26(3), 596-601.
- 7) S. C. Jang et al., *Commun. Biol.*, **2021**, 4(1), 497.
- 8) N. D. Lewis et al., *Mol. Cancer Ther.*, **2021**, 20(3), 523-534.
- 9) C. Fusco et al., *J. Extracell. Vesicles*, **2024**, 13(5), e12433.
- 10) A. L. Lightner et al., *Chest*, **2023**, 164(6), 1444-1453.
- 11) 日本細胞外小胞学会, 2023
https://jsev.jp/docs/jsev_ev_treatment_2023122501.pdf. (最終アクセス 2025年9月10日)

[著者プロフィール]

氏名：吉岡 祐亮 (Yusuke Yoshioka)

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

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：EVが関与する病態メカニズムの解明、EVを用いたバイオマーカーおよび治療薬の開発、EV研究の再現性・安定性向上に向けた測定・分離法の標準化と品質評価の研究など

Topics on Chemistry

細胞外小胞研究の課題と技術的進展

株式会社同仁化学研究所 稲垣 瑞希

細胞外小胞 (extracellular vesicle, EV) は、タンパク質や miRNA などの生物学的活性を持つ分子を内包しており、細胞間コミュニケーションの担い手として、近年大きな注目を集めている¹⁾。特に、腫瘍微小環境の制御や免疫応答の調節²⁾、神経変性疾患の進行³⁾といった、病態における関与が示されており、疾患特異的なバイオマーカーや治療応用への展開が期待されている⁴⁾。一方で、EV 研究には未だ解決すべき技術的課題が残っている。第一に、EV の直径は数十～数百ナノメートルと非常に小さいため、詳細な構造やマーカーを正確に捉えるには高分解能の観察装置が必要である。第二に、個々の EV に含まれる分子量が極めて少ないため、十分なシグナルを得ることが難しい。第三に、EV 集団は不均一性を有しており、細胞種や疾患状態、また同一細胞内でも構成要素やマーカー発現が多様であるため、集団平均に基づく解析のみでは実態を正確に把握できない可能性がある^{5,6)}。これらの課題を背景に、EV 研究では主に二つの方向での技術的進展が見られている。ひとつは、高純度に EV を分離する技術により夾雑物を減らし、下流のオミクス解析やマーカー検出の精度を向上させている⁷⁾。もうひとつは、単一 EV 解析技術であり、フローサイトメトリーやマイクロ流体技術を活用した単一粒子解析といった新しいアプローチが報告されている⁸⁾。

本稿では、特に最近報告された、単一 EV 解析の最先端手法を紹介したい。

2025 年、Wu らはローリングサークル増幅法 (rolling circle amplification, RCA) と膨張顕微鏡法 (expansion microscopy, ExM) を組み合わせた、新しい単一 EV 解析技術の研究成果を報告している⁹⁾。この手法は、以下 3 点の特徴を持つ。

1. EV 表面タンパク質 (EpCAM, PD-L1) シグナルの増幅

PD-L1 を認識するスイッチヘアピンプローブ (switch hairpin probe, SP) を用いて、SP を鋳型として RCA を行い、蛍光シグナルを増幅した。

2. EV 内部 miRNA (miR-21) シグナルの増幅

miR-21 を検出するため、EV-リボソーム融合を利用し、分子ビーコン (molecular beacon, MB) と二本鎖特異的ヌクレアーゼ (dual-specificity nuclease, DSN) を導入し、増幅回路を構成した。

3. ExM を用いた観察

1, 2 のシグナル増幅後、ハイドロゲルを用いた ExM を適用することで、EV を物理的に拡張させ、通常の蛍光顕微鏡で

ナノスケール構造を観察可能にした。

RCA-ExM 法は、従来の蛍光顕微鏡の限界を超えて、単一 EV の表面タンパク質と内部 miRNA の同時可視化を実現した。さらに臨床検体を用いた解析では、特定の EV 集団が患者群と健常群を識別し、免疫療法の効果予測にもつながる可能性が示された。本技術は、EV の単一粒子解析を実現する新たな方法であり、1 粒の EV を診断や治療モニタリングに活用するための一歩となるだろう。こうした技術革新がエクソソームのさらなる利用法を切り拓き、研究や臨床応用が一層進展することが期待される。

【参考文献】

- 1) H. Valadi, K. Ekström, A. Bossios *et al.*, “Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells”, *Nat. Cell Biol.*, **2007**, 9(6), 654-659.
- 2) G. Chen, A. C. Huang, W. Zhang *et al.*, “Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response”, *Nature*, **2018**, 560(7718), 382-386.
- 3) Z. Ruan, D. Pathak, S. V. Kalavai, A. Yoshii-Kitahara, S. Muraoka, N. Bhatt, K. Takamatsu-Yukawa, J. Hu, Y. Wang, S. Hersh, M. Ericsson, S. Gorantla, H. E. Gendelman, R. Kayed, S. Ikezu, J. I. Luebke and T. Ikezu, “Alzheimer’s disease brain-derived extracellular vesicles spread tau pathology in interneurons”, *Brain*, **2021**, 144(1), 288-309.
- 4) M. Zhang, S. Hu, L. Liu *et al.*, “Engineered exosomes from different sources for cancer-targeted therapy”, *Sig. Transduct. Target. Ther.*, **2023**, 8(1), 124.
- 5) C. Théry, K. W. Witwer, E. Aikawa *et al.*, “Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines”, *J. Extracell. Vesicles*, **2018**, 7(1), 1535750.
- 6) S. Sharma, M. LeClaire, J. Wohlschlegel *et al.*, “Impact of isolation methods on the biophysical heterogeneity of single extracellular vesicles”, *Sci. Rep.*, **2020**, 10(1), 13327.
- 7) V. Solovicová, A. Datková, T. Bertók *et al.*, “Advances in magnetic affinity-based isolation/detection of exosomes for robust diagnostics”, *Microchim. Acta*, **2025**, 192(4), 206.
- 8) S. H. Hilton, I. M. White, “Advances in the analysis of single extracellular vesicles: A critical review”, *Sens. Actuators Rep.*, **2021**, 3, 100052.
- 9) J. Wu, Q. Dou, M. Mao *et al.*, “Single extracellular vesicle imaging via rolling circle amplification-expansion microscopy”, *Nat. Commun.*, **2025**, 16(1), 7498.

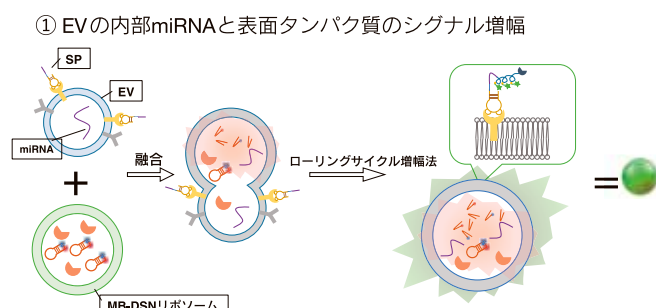


図 1 RCA-ExM 法 概略図

関連製品

エクソソーム精製キット・キット用フィルター

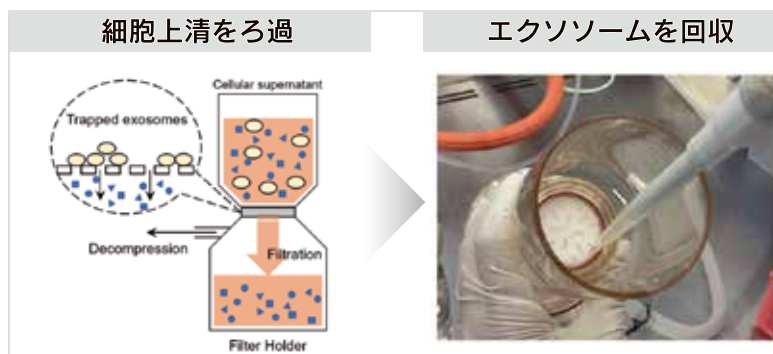
Exsolulator Exosome Isolation Kit

<特長>

- ・細胞培養上清のフィルトレーションだけでエクソソームを精製可能
- ・エクソソームの回収率は超遠心法と同等
- ・超遠心機等の高額な機器は不要

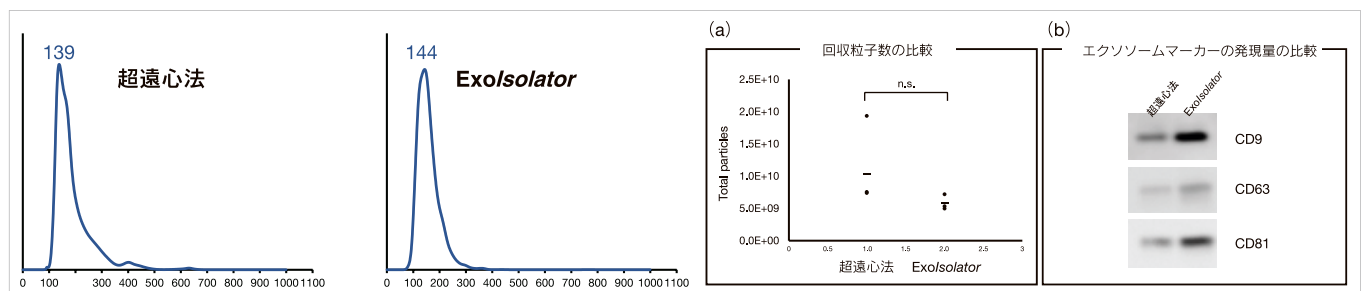
細胞が分泌する細胞外小胞（Extracellular vesicle: EV）の一種であるエクソソームは、さまざまなタンパク質や核酸などを内包しており、エクソソームを介して内包物質が伝達されることで、受け手側の細胞にいろいろな影響を与えることが明らかとなっておりま。近年、特にがん研究分野では悪性化や転移に促進的に寄与することから注目を集めています。

Exsolulator Exosome Isolation Kit は、培養上清中に分泌されたエクソソームをフィルトレーションの操作だけで簡単に、短時間で回収することができるキットです。



<超遠心法と同等の回収実績>

エクソソーム回収法で最も良く使用される超遠心法と本キットのそれぞれを用いて、HEK293S 細胞の培養上清から回収したエクソソームの粒度分布（下記左図）、粒子数（下記右図（a））とエクソソームマーカーの発現量（下記右図（b））を比較しました。その結果、本キットは超遠心法と同等の粒度分布を示しており、回収できた粒子数も同等で、さらにエクソソームマーカーが多く発現していることがわかりました。



超遠心法と Exsolulator の比較 (左図: ナノ粒子トラッキング解析結果、右図: 回収粒子数とマーカータンパク発現量の結果)

初めてお使いの方は

Exsolulator Exosome Isolation Kit [コード:EX10]

フィルターホルダーとフィルターが一式入ったセット品です。フィルターホルダーはオートクレーブ滅菌で再使用可能です。

キット内容

- ・ Filter Holder ×1
- ・ Isolation Filter ×3
- ・ Tweezers ×1



既にキットをお持ちの方は

Exsolulator Isolation Filter [コード:EX11]

消耗品であるフィルターが、10 枚入っています。



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Exsolulator Exosome Isolation Kit	3 tests	87,800	EX10
Exsolulator Isolation Filter	10 pieces	107,000	EX11

関連製品

エクソソーム染色キット

エクソソーム膜 蛍光染色キット

ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green, Red, Deep Red

エクソソームタンパク質 蛍光染色キット

ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green, Red, Deep Red



<特長>

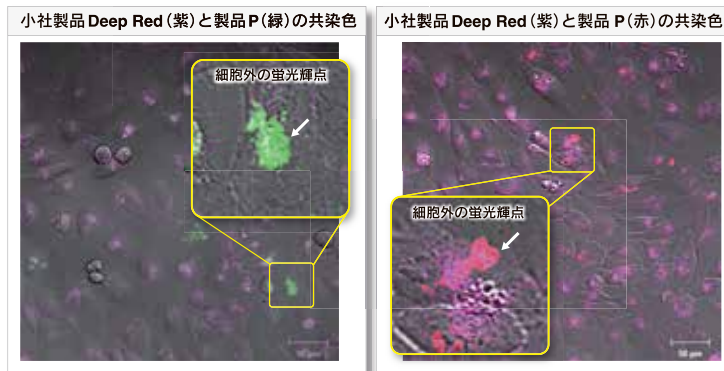
- ・細胞外で凝集しない
- ・キットだけで蛍光標識から精製まで可能
- ・エクソソームの性質にほとんど影響しない

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](#)

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。

- (1) ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red 及び S 社製品 P（緑または赤）で染色したエクソソームを HeLa 細胞へ添加し、細胞内へ取り込まれるエクソソームを蛍光顕微鏡で確認した結果、ExoSparkler シリーズでは色素の凝集が見られなかったのに対し製品 P（緑または赤）で染色したエクソソームでは、色素の凝集が疑われる細胞外の蛍光輝点が確認されました。



<観察条件>

ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red（紫）：
Ex 640 nm / Em 640-760 nm

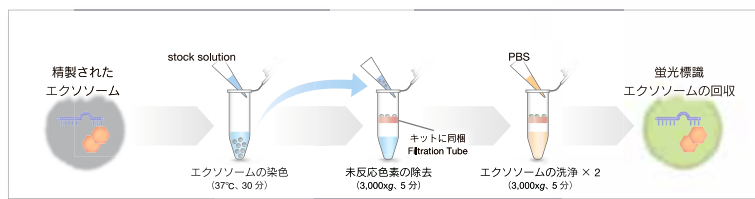
S 社 製品 P（緑）：
Ex 488 nm / Em 490-540 nm

S 社 製品 P（赤）：
Ex 561 nm / Em 570-640 nm

- (2) ExoSparkler シリーズは、エクソソームの標識に最適化したプロトコルに加え、蛍光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を同梱しているため、簡単な操作で蛍光標識エクソソームを調製できます。

ExoSparkler シリーズにおける染色工程

精製手法（未反応色素の除去）と回収率の比較



	回収率※
フィルトレーションチューブ（本キット）	50% 程度
ゲルろ過法	10% 程度

※ 小社での実施例：

精製前後のエクソソーム粒子数を NTA（ナノ粒子トラッキング解析）で比較

- (3) ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit（Green, Red, Deep Red）で染色する前後のエクソソームについて、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、小社製品は、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ました。比較データは製品 HP に掲載しています。

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	30,200	EX01
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Red	5 samples	30,200	EX02
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red	5 samples	30,200	EX03
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green	5 samples	24,100	EX04
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Red	5 samples	24,100	EX05
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Deep Red	5 samples	24,100	EX06

※精製済エクソソーム（超遠心法）として、タンパク質：1-10 µg/sample、粒子数：10-100 × 10⁸ 個/sample

関連製品

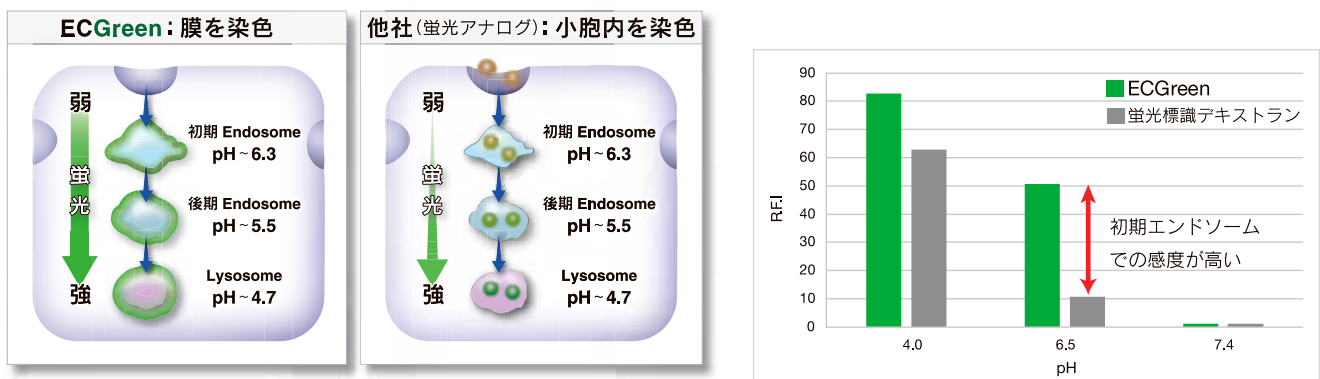
エンドサイトーシス検出試薬

ECGreen-Endocytosis Detection

<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。

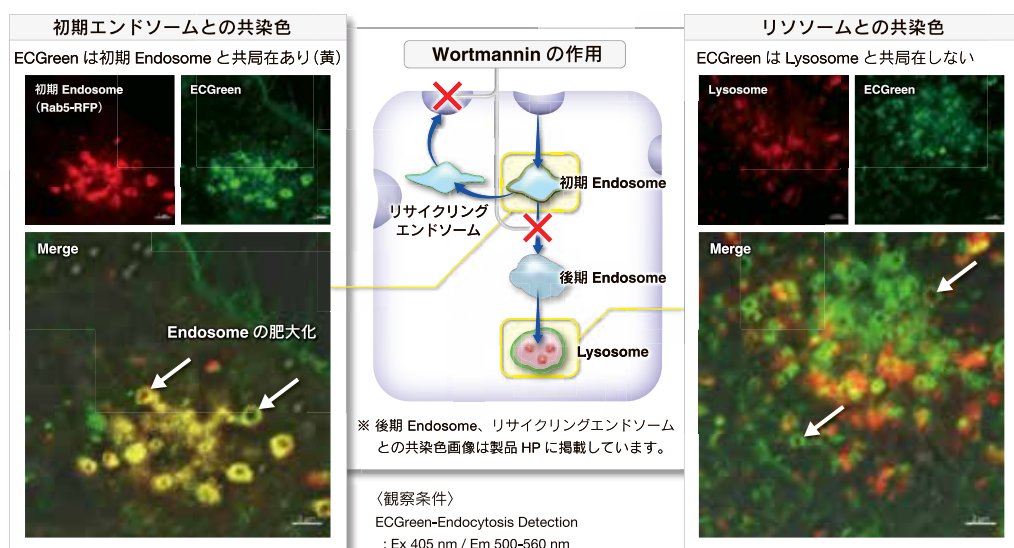


染色原理の模式図

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惹起する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。



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
ECGreen-Endocytosis Detection	40 µl	54,200	E296

<使用回数の目安> 40 µl 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

新製品

組織用鉄イオン測定キット

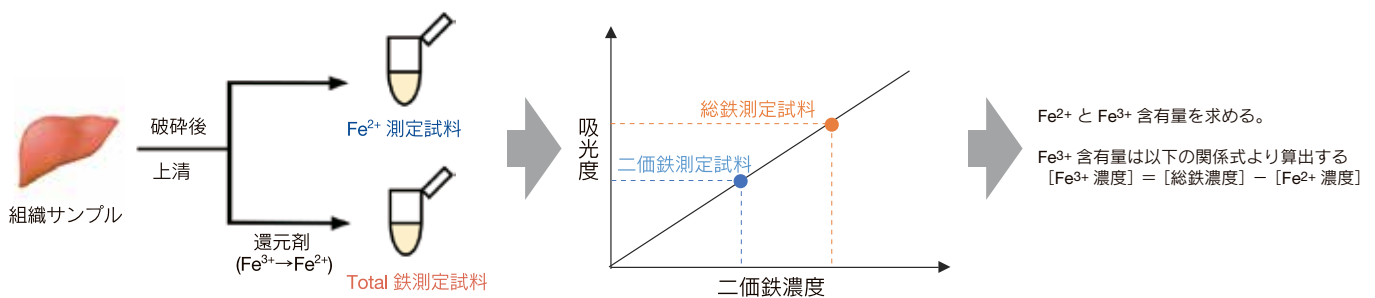
Iron Assay Kit -Colorimetric-

<特長>

- ・組織サンプルの鉄を検出
- ・二価鉄および三価鉄の含有量を定量するための標準品を同梱
- ・鉄量の算出に便利な計算シートを準備

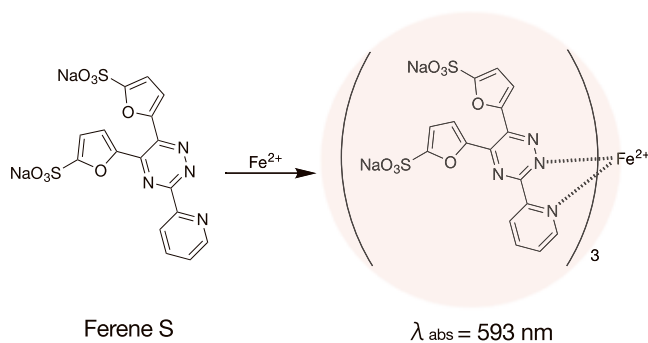
Iron Assay Kit-Colorimetric は、試料の前処理から鉄イオン濃度の測定まで約 2 時間でデータを取得することが可能です。組織溶解液に鉄イオンプローブ Ferene S を添加し、その吸光度を測定することにより組織試料中の二価鉄量を算出することができます。さらに、キット付属の還元剤を用いて試料中の鉄イオンをすべて二価鉄に還元することで総鉄量を測定し、二価鉄量を差し引くことで試料中の三価鉄量を算出することが可能です。

<操作手順>



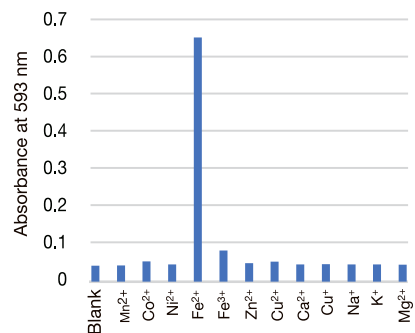
<発色原理>

Fe²⁺ は Ferene S と反応し、黄橙色に発色します。



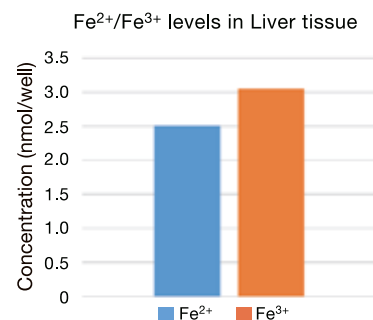
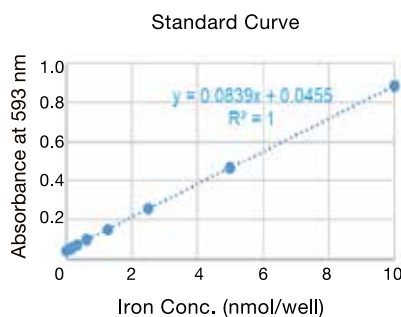
<鉄イオンプローブの金属イオン選択性>

Ferene S と各金属イオンとの反応を吸光度法で測定し、二価鉄と選択的に反応することを確認しました。



<実験例：組織サンプル中の二価鉄および三価鉄の検出>

本キットを用いてマウス由来肝臓中の二価鉄と三価鉄量を測定しました。マウス肝臓 100 mg 中に二価鉄 2.51 nmol、と三価鉄 3.05 nmol の合せて総鉄量 5.56 nmol が含有されていることが確認できました。



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Iron Assay Kit -Colorimetric-	50 tests	39,800	I291

新製品

組織用ミトコンドリア分画キット

IntactMito Fractionation Kit for Tissue

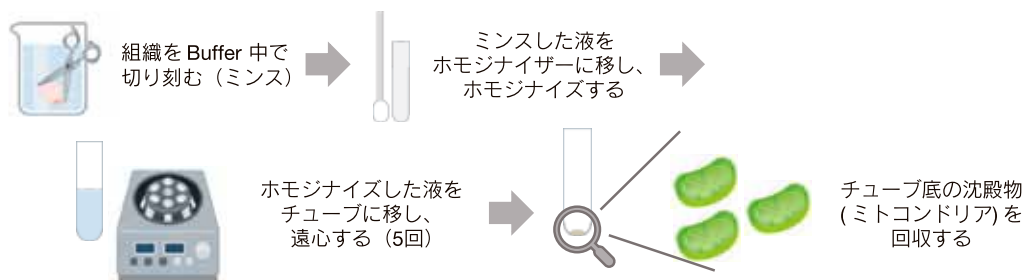
<特長>

- ・組織からミトコンドリアをインタクトな状態で分画可能
- ・分画したミトコンドリアでミトコンドリア活性の指標の一つである酸素消費速度が測定可能

好気性生物は主にミトコンドリアの酸化的リン酸化で ATP を産生しているため、ミトコンドリア機能に異常が生じると ATP 産生が低下し、がんや老化、アルツハイマー病などの神経変性疾患、ミトコンドリア病を引き起こすことが知られています。

ミトコンドリア機能評価において、ミトコンドリア以外のオルガネラ等の影響を避けるため、単離したミトコンドリアが用いられており、その論文数も近年増えてきています。ミトコンドリア分画キットは、組織からインタクトなミトコンドリアを分画するために必要な試薬やバッファーだけでなく、遠心チューブも同梱しています。

<操作手順>



<実験例：マウス組織（脳）から分画したミトコンドリアの酸素消費速度（OCR）変化>

マウスの脳から分画したミトコンドリアの OCR 変化を下記の小社製品 Extracellular OCR Plate Assay Kit を用いて評価しました。

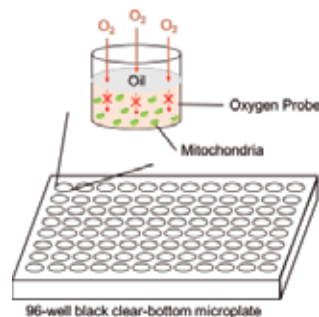
【メーカーコード：品名】

E297: Extracellular OCR Plate Assay Kit

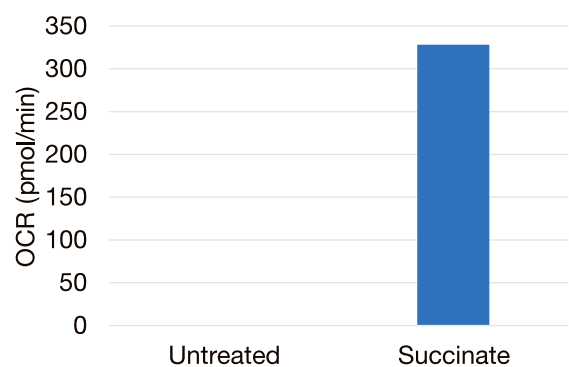
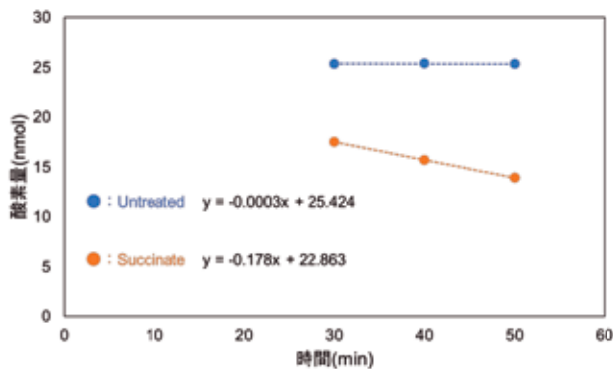
【コンポーネント】



- ・ Mineral Oil : 空気中の酸素流入を遮断する
- ・ Oxygen Probe : 培地中の酸素濃度が低下するとりん光強度が高くなる



分画したミトコンドリアに Succinate を添加すると、Untreated と比べて OCR (= グラフ直線の傾き) が増加しました。



【検出条件】

測定モード：蛍光、ボトムリーディング
 検出波長：Ex/Em = 500/650 nm
 測定温度：37℃

【実験条件】

ミトコンドリア量：50 μ g/well (タンパク質量として)
 Succinate (final): 10 mmol/l

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
IntactMito Fractionation Kit for Tissue	10 tests	55,000	MT17

新製品

ミトコンドリア Complex I 活性測定キット

MitoComplex-I Activity Assay Kit

<特長>

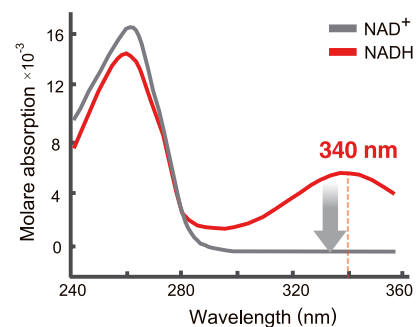
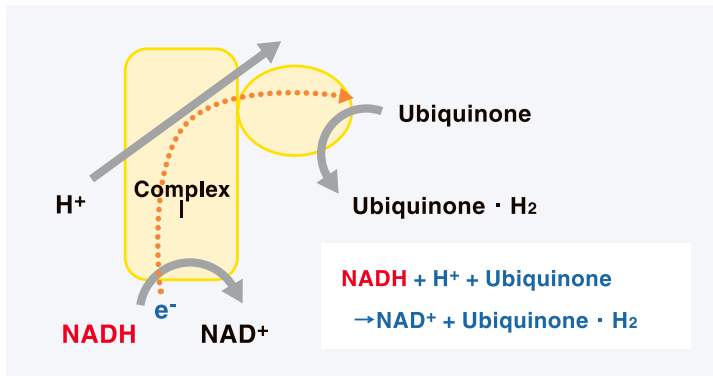
- ・分画したミトコンドリアに試薬を添加するだけで測定可能
- ・凍結保存したミトコンドリアでも測定可能

ミトコンドリアは、生命活動に必要な ATP（アデノシン三リン酸）を合成する役割を担っています。ATP の合成過程で行われる呼吸反応の一部である電子伝達系は、ATP 合成に必要なプロトン駆動力を生み出し、細胞内 ATP 産生に関与する重要な反応機構です。電子伝達系は 5 つの酵素複合体（Complex I～V）から構成されており、中でも Complex I（NADH: ユビキノン酸化還元酵素）は電子伝達系の出発点に位置します。NADH からユビキノンへの電子伝達を介して、プロトンをミトコンドリアのマトリックスから膜間腔へ輸送します。

本キットは、NADH 酸化反応を指標に Complex I 活性を比色測定でき、分画したミトコンドリアを用いた定量解析が可能です。また 96 ウェルプレートを用いて多検体を同時に処理できるため、Complex I の薬剤影響評価にも適用できます。

<原理>

Complex I の働きにより、電子は NADH から Ubiquinone に渡され、その際に NADH は NAD^+ へと酸化されます。NADH は 340 nm 付近に極大吸収を持っているため、340 nm の吸光度の減少を測定することで Complex I の活性として測定することが可能です。

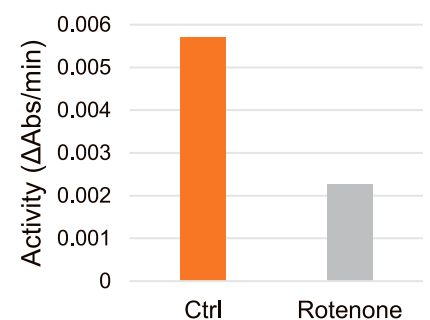


<実験例 1：IntactMito Fractionation Kit for Tissue にて分画したミトコンドリアの Complex I 活性測定>

小社製品の IntactMito Fractionation Kit for Tissue を用いて、マウスの脳から分画したミトコンドリアの Complex I の活性を本キットを用いて測定しました。Complex I 阻害剤である Rotenone を添加すると Complex I 活性の低下が確認されました。

【実験条件】

- ・使用サンプル：マウス脳由来の分画したミトコンドリア
- ・使用薬剤：10 $\mu\text{mol/l}$ Rotenone

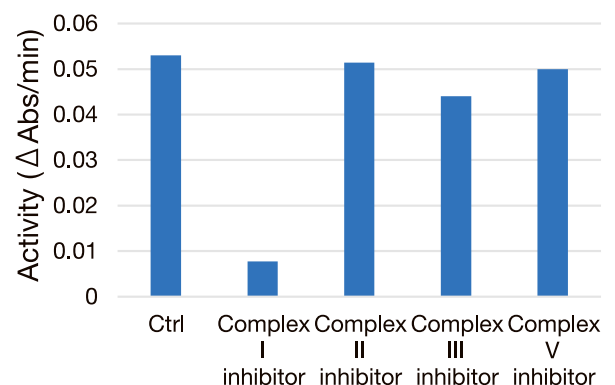


<実験例 2：各複合体阻害剤添加時の活性測定>

ミトコンドリア電子伝達系複合体 I、II、III、V の各阻害剤を添加したときの Complex I 活性の変化を本キットを用いて測定しました。Complex I 阻害剤を添加した条件のみ、Complex I 活性の低下が確認されました。

【実験条件】

- ・使用サンプル：ウシ心臓由来の分画したミトコンドリア
- ・使用薬剤：
 - Complex I inhibitor (0.5 $\mu\text{mol/l}$ Rotenone)
 - Complex II inhibitor (0.5 $\mu\text{mol/l}$ TTFA)
 - Complex III inhibitor (0.5 $\mu\text{mol/l}$ Antimycin)
 - Complex V inhibitor (0.5 $\mu\text{mol/l}$ Oligomycin)



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
MitoComplex-I Activity Assay Kit	100 tests	45,000	MT18

連載

生命科学の最前線

～タイ王国研究者の現場から～ ②

小社が立地する熊本にある熊本大学とパートナーシップ協定を結んでいるタイの大学研究者によるライフサイエンス分野の連載(4回)をお届けします。

The Stealthy Factor: sfRNA Orchestrates Infection



Sarin Chimnaronk

Laboratory of RNA Biology
Institute of Molecular Biosciences
Mahidol University

Abstract

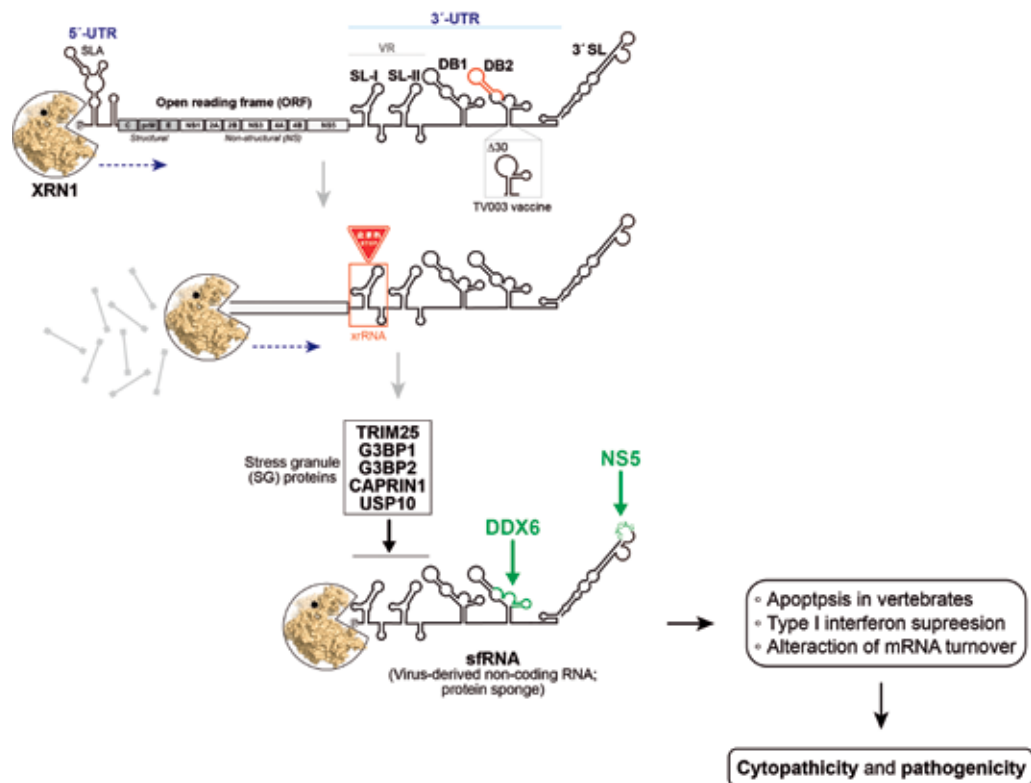
Flaviviruses contain a single-stranded positive-sense RNA genome that serves as the template for both viral replication and translation. During the replication of the viral genomic RNA (gRNA), uncapped and decapped gRNAs become the target for cellular RNA degradation by the 5'-to-3' exoribonuclease XRN1. However, the 3' untranslated region (UTR) of gRNA is highly resistant to XRN1 and remains accumulated as a noncoding subgenomic flavivirus RNA (sfRNA) in infected cells. sfRNA is implicated in virus-induced cytopathicity and pathogenicity in vertebrate hosts. In mosquitoes, sfRNA plays a crucial role in overcoming the mosquito midgut barrier and virus accumulation in the saliva. While the functions of sfRNA have been extensively studied, the accurate molecular mechanisms by which sfRNA facilitates viral pathogenesis remain incompletely understood. This review summarizes the current knowledge on the mechanisms of sfRNA, with an emphasis on its intracellular interactions, and discusses the prospects for its applications in drug and vaccine development.

Introduction of sfRNA

Flaviviruses include many of the most prevalent viral scourges known to humanity, such as dengue virus (DENV), Zika virus (ZIKV), West Nile virus (WNV), Kunjin virus (KUNV), yellow fever virus (YFV), Japanese encephalitis virus (JEV), tick-borne encephalitis virus (TBEV), St. Louis encephalitis virus (SLEV), and Murray Valley encephalitis virus (MVEV): a total of 53 species are listed by the International Committee on Taxonomy of Viruses as of 2017¹⁾. These viruses are transmitted by arthropod vectors, typically mosquitoes and ticks. DENV alone causes more than 100 million infections annually worldwide²⁾. The infection with flavivirus can cause a spectrum of diseases, ranging from mild febrile illnesses to severe hemorrhagic fevers and neurological complications. Despite the high disease burden, there are still no approved drugs for most flaviviral diseases. Flaviviruses are spherical enveloped particles of approximately 50 nm in diameter that contain a single-stranded, positive-sense RNA molecule of 10–12 kb long. The gRNA has a type I cap at the 5' end but lacks a poly(A) tail at the 3' terminus. The gRNA consists of a single open reading frame (ORF), which encodes three structural proteins (C, prM, and E) and seven non-structural proteins (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, and NS5) (see Figure)³⁾. The viral polypeptide is cleaved by viral and host proteases into the mature proteins. The flavivirus genome is flanked by 5' and 3'-

UTRs, which are enriched with characteristic RNA secondary structures with crucial roles in replication and translation^{4), 5)}. The 5'-UTR of flaviviruses spans around 100 nucleotides in length, whereas the 3'-UTR ranges from 400 to 700 nucleotides in length, depending on the virus species. A fascinating aspect of flavivirus biology, uncovered over the past two decades, is their production of a unique, noncoding RNA molecule known as subgenomic flavivirus RNA or sfRNA⁶⁾. Production of sfRNA by flaviviruses was first reported for MVEV⁷⁾. All known arthropod-borne flaviviruses produce 300–500-base-long sfRNA from the viral 3'-UTR by stalling the cellular 5'-to-3' exoribonuclease XRN1 at a set of conserved pseudoknot-like RNA structures at the 5' region of the 3'-UTR, resulting in the incomplete degradation of gRNA (see Figure)⁸⁾⁻¹⁰⁾. It should also be noted that multiple sfRNA isoforms with different sizes can be concurrently generated due to stalling of XRN-1 at different structural RNA elements in the 3'-UTR¹¹⁾.

To date, studies on the functions of sfRNA have been actively conducted. WNV with impaired sfRNA production showed a significant reduction in virus-induced cytopathic effect in Vero cells and pathogenicity in mice⁶⁾. sfRNA alone did not induce apoptosis in BHK-21 cells, indicating that sfRNA must act under the condition of viral infection to promote virus-induced cytopathicity and apoptosis in mammalian cells¹²⁾. It has been



Figure

Schematic illustration of subgenomic flaviviral RNA (sfRNA) biogenesis and functions through XRN1 (Pacman)-mediated degradation of viral genomic RNA (gRNA). The representative genome of dengue virus serotype 2 (DENV-2) is depicted, including its overall organization and conserved RNA structural elements within the 3'-untranslated region (3'-UTR) — notably stem loops (SL), dumbbells (DB), short hairpins, and the 3'-terminal stem loop (3' SL). The SL-I element, also referred to as xrRNA, adopts a three-dimensional conformation that effectively stalls XRN1-mediated degradation. Two protein-binding sites, identified in our previous studies, in DB2 and the 3' SL are marked in green. sfRNA has been implicated in flavivirus-induced cytopathic effects and contributes to viral pathogenicity.

demonstrated that both structural and non-structural proteins of flaviviruses exhibited pro-apoptotic activity, inducing cell death in various cell models¹⁷. However, mutants of WNV and DENV deficient in the generation of sfRNA showed a drastic reduction in their ability to form plaques on Vero and BHK-21 cells, respectively. sfRNA-deficient viruses exhibited only 10% apoptosis, compared to 60-70% caused by the wild-type viruses^{6, 12}. It was also reported that sfRNA-deficient DENV failed to induce cleavage of caspase-3 and downstream cleavage of poly ADP-ribose polymerase (PARP), suggesting sfRNA triggers activation of caspase-3-dependent apoptotic pathways¹². Intriguingly, in contrast to vertebrate hosts, sfRNA suppressed apoptosis in ZIKV-infected mosquito cells, as required for virus accumulation in the saliva for productive viral transmission^{13, 14}. It is also noted that sfRNA in mosquito saliva is present in the extracellular vesicle (EV)-like particles¹⁵. Unfortunately, the key pathway and mechanism underlying the discrepancy between induction and suppression of apoptosis in mammalian and mosquito cells remain poorly understood.

Besides cell death, the most investigated cellular pathway is the immunosuppression in hosts, as it is generally assumed that viruses should evade the innate immune response to facilitate efficient viral replication. Indeed, the DENV serotypes 2 (DENV-2) PR-2B strains that emerged during the epidemic in Puerto Rico in 1994 contained variants in the 3'-UTR, which significantly increased the level of sfRNA production per copy of gRNA than that of the DENV-2 PR-1 strains before the endemic¹⁶. Epidemic strains also induced lower expression of interferon-

beta (IFN- β) during infection in human hepatocellular carcinoma HuH-7 cells and primary monocytes. Moreover, transfection of *in vitro* transcribed sfRNA from PR-2B strain into HuH-7 cells together with poly(I:C), an immunostimulant, showed reduced expression of IFN- β compared to transfection of poly(I:C) alone and poly(I:C) with sfRNA from pre-epidemic strain. Unlike the apoptotic effect, these data support the rationale that the sfRNA molecule can directly suppress IFN- β , regardless of infection, and both the sequence and amount of sfRNA are key factors in the high attenuation of IFN- β expression. Also, transfection of an *in vitro* transcribed 5'-monophosphorylated DENV-2 3'-UTR into HuH-7 cells before infection by DENV-2 could abrogate the expression of both IFN- β and IFN- λ 1 genes, as well as IFN-stimulated genes (ISGs) of ISG15 and myxoma resistance 1 (MX1), as measured by qRT-PCR¹⁵. At present, it is generally accepted that sfRNA inhibits the induction of the type I IFN of IFN- β and potentially IFN- λ to enhance infectivity¹⁸.

Remarkably, sfRNA is required for the pathogenicity of WNV in the mouse model. Mice infected with sfRNA-deficient viruses showed no sign of WNV-induced encephalitis and survived the infection, whereas mice challenged with the wild-type virus were 100% lethal at day 9⁶. The difference in viral load in the mouse brain was not obvious, indicating sfRNA is not essential for viral replication and spread *in vivo*. Thus, the lack of neuropathogenicity is conceivably associated with the loss of sfRNA, which prevents the virus from inhibiting type I interferon and/or eliciting apoptosis. However, no proof was provided for the increased apoptosis or the impairment of immune function in

the infected mouse brain. It also requires further study to investigate if the sfRNA-dependent pathogenicity in vertebrates can be extrapolated to other flaviviruses.

Physical interactions of sfRNA

Before we go any further, let's take a close look at the conserved RNA secondary structures in the flaviviral 3'-UTRs, using the DENV-2 UTR as an example (see Figure). The flaviviral 3'-UTR can be divided into 3 regions. From the 5' end is the variable region containing duplicated structured stem-loop RNA elements (SLs). The number of SL can be varied in each flavivirus strain. More importantly, these SL structures can form the pseudoknot RNA secondary structure and fold into a unique, compact three-dimensional structure of a three-helix junction, which halts XRN1 and produces sfRNA²⁰. These RNA domains are also called exoribonuclease-resistant RNAs (xrRNAs). The three 5' nucleotides upstream of SL are protected from XRN1 degradation by base pairing within a ring-like structure of xrRNA. Disruption of these base pairs by mutations abolished the ability to resist XRN1 degradation²⁰. Since the configuration of the three-helix junction formed in xrRNAs has not been previously observed and cannot be classified into the three known types of three-way junctions, flaviviruses have intentionally acquired the xrRNA module and XRN1-resistant mechanism over a long period of evolution to produce sfRNA.

The middle domain of flaviviral 3'-UTR has a single or two similar dumbbell-shaped RNA structures (DB1 and DB2). Remarkably, the hairpin occupying the 3' half of DB harbors the most significantly conserved sequence among flaviviruses, implying a fundamental function in the virus life cycle²¹. At the 3' region of the 3'-UTR, there is the longest terminal 3'-stem loop (3' SL) preceded by a short hairpin (sHP). The apical loop of 3' SL contains a highly conserved pentanucleotide of CACAG, which is required for viral replication²². Hence, the unique and conserved RNA sequences and structures in the flaviviral 3'-UTR and sfRNA can be easily predicted to serve as a platform for the interactions with protein and protein complexes, so-called "protein sponge", to control or fine-tune processes in the viral life cycle.

To comprehensively understand the action of sfRNA, several efforts have been made to identify the cellular proteins that interact with sfRNA in infection. Due to current advances in computer science, a large-scale *in silico* exploration of the global interaction network, known as the "interactome", of sfRNA across multiple flaviviruses, including DENV, ZIKV, JEV, YFV, and WNV, was conducted using the catRAPID omics server¹⁹. The results revealed five human RNA-binding proteins (RBPs), which were DDX1, NKRF, CSTF3, TRM1L, and NUPF2, that were predicted to interact with sfRNAs of all flaviviruses tested. The computational screening of protein-RNA interactions is a fascinating yet poorly experimentally validated area. It is hoped that the rapid progress of artificial intelligence (AI) will enable accurate and reliable prediction of interactions in the near future. Alternatively, the general method for identifying proteins interacting with the RNA of interest involves a combination of RNA affinity pull-down and mass spectrometry (AP/MS). An earlier study using AP/MS identified the Y-box-binding protein (YBX1) bound to two loops in the DENV-3 3' SL²³. However, YBX-1 was not found in another AP/MS study with DENV-2

UTRs²⁴. This discrepancy in the published dataset for sfRNA-bound proteins is often observed in the AP/MS studies, likely due to the variation in the viral RNA sequences, affinity tag sequence, cell types, experimental conditions, and analysis procedure. It should also be noted that affinity pull-downs might not be performed in an environment mimicking viral infection. In particular, the use of uninfected cell lysate for the pull-down is likely to introduce significant bias by ignoring gene expression patterns, protein localization, and time course in infection. To date, there are very few interaction pairs of sfRNA and host proteins that have been characterized for their accurate recognition motifs and downstream molecular effects of interaction.

So far, the most characterized sfRNA interactions are enriched in the 5' variable region of DENV sfRNA. As described above, XRN1 stalls by the ring-like configuration of xrRNAs and produces sfRNA. A previous study demonstrated that sfRNA sequesters XRN1 during DENV and KUNV infection to dysregulate host mRNA turnover, as observed for the accumulation of uncapped mRNAs and increased stability of host transcripts in HEK293T cells. However, it requires further testing in more cell types to generalize this finding. It is also unclear how the alterations in host mRNA half-lives would impact the regulation of interferon expression and cell death. A fascinating finding is the interaction of the regulators of cytoplasmic stress granules (SGs) with the variable region of DENV sfRNA. G3BP1, G3BP2, CAPRIN1, and USP10 are proteins localized to SGs, which were found to interact with the first xrRNA (SL-I in DENV-2)^{24, 25}. SGs are cytoplasmic RNA granules that act as sites for the storage and/or degradation of mRNAs under cellular stress conditions that inhibit translation initiation. It was proposed that the binding of these SG proteins to DENV-2 sfRNA inhibited translation of two selected interferon-stimulated genes (ISGs) of IFITM2 and PKR to down-regulate the antiviral activity of IFN- β . However, this interaction of sfRNA with SG components was not reproducible in the DENV-3 strain and other flaviviruses²⁵ and was not found in another AP/MS study on ZIKV sfRNA²⁶. Lastly, the variable region of sfRNA from clinical isolates of DENV-2 was shown to interact with the ubiquitin ligase tripartite motif-containing protein 25 (TRIM25) and prevent deubiquitination of TRIM25 to counteract RIG-I-induced IFN- β expression. Again, the TRIM25 interaction was proven only in specific DENV-2 strains and not identified in other AP/MS studies with DENV-2 and ZIKV^{24, 26}. Interestingly, TRIM25 possesses robust RNA-binding activity in its C-terminal PRY/SPRY domain and also forms the complex with SG proteins, including G3BP1 and USP10²⁷. Because evidence for interactions with the variable region of sfRNA was mainly provided by the pull-down experiments with cell lysate, it should therefore not be simple to argue the direct binding of those proteins to the sfRNA sequences and structures.

Our study and other studies identified DDX6, a DEAD-box RNA helicase implicated in the formation or function of processing bodies (PBs) and SGs, as an interactor of the dumbbell RNAs in sfRNA^{21, 24, 26}. We first pinpointed the DDX6-binding site to the completely conserved hairpin at the 3' half of DB2 and measured their affinity (Kd) to be ~8 nM²¹. This interaction has been confirmed in DENV-1-4, ZIKV, and WNV in vertebrate cells and even in mosquito cells¹⁴. Our results

showed that sequestering DDX6 by DB2 resulted in host cell cycle arrest in the G1 phase²¹. Intriguingly, DDX6 was found to be a new regulator of the antiviral IFN response²⁸. Further studies are clearly required to identify the molecular events downstream of DDX6 sequestration by sfRNA, which may advance our understanding of the innate immunomodulatory activity of sfRNA.

The last domain of sfRNA contains a 3' SL element. Our previous study revealed that the conserved pentanucleotide in the apical loop of 3' SL is recognized and bound to the viral NS5 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) (see Figure)²². This interaction is indispensable for the replication of gRNA. The binding of viral NS5 to sfRNA was also described in a recent AP/MS study using ZIKV-infected cell lysate²⁹. Notably, it was suggested that the NS5-bound sfRNA complex interacts with signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), leading to a reduction in phosphorylation and nuclear translocation of STAT1 to block type I and III IFN signaling²⁹. This interaction currently offers the most comprehensive insight into the mechanism by which sfRNA antagonizes the interferon (IFN) response.

Implication of the flavivirus live-attenuated vaccine

The strong association between sfRNA production and the pathogenicity of flaviviral diseases emphasizes its clinical importance and identifies it as a compelling candidate for novel antiviral intervention strategies such as a live-attenuated vaccine. A tetravalent DENV vaccine, named TV003, that is currently in phase 3 clinical trials, was developed by introducing a 30-nucleotide deletion ($\Delta 30$) in the 5' hairpin of DB2 in the 3'-UTR (review in³⁰). The phase I clinical trial demonstrated that a single dose of TV003 induced a robust, balanced neutralizing antibody response against all four serotypes of DENV, with no subjects experiencing any dengue-like illness³¹. Intriguingly, the DENV $\Delta 30$ vaccine strain decreased the accumulation of sfRNA in infected human cells³². Later, it was reported that the deletion of only the last 10 nucleotides ($\Delta 10$) of $\Delta 30$ was sufficient and essential to make ZIKV attenuated in the mouse model³³. Moreover, the 3' region of the $\Delta 30$ and $\Delta 10$ deletion always overlaps (5-6 nucleotides) with the DDX6-binding site in DB2, which was shown that mere deletion of this overlapped sequence abolished DDX6-binding capacity²¹. Collectively, these disparate findings converge to support a model of flavivirus attenuation in which DDX6 is central to sfRNA stabilization and the regulation of IFN signaling, which awaits further investigations.

Conclusions and future directions

The structured noncoding sfRNA highlights the evolutionary innovation of flaviviruses, serving as a streamlined and potent mechanism for host cell manipulation. Accumulating evidence has firmly established sfRNA as a key regulator of host immune modulation and viral pathogenicity. Here, we propose that functional interactions of sfRNA with NS5 and DDX6 are a pivotal mechanism underlying these effects. DDX6 is an essential and evolutionarily conserved protein fundamental for mRNA translation control, storage, and degradation. Further studies are clearly required to clarify how sfRNA-mediated sequestration of

DDX6 contributes to the broader reprogramming of RNA metabolic pathways. Also, further studies to provide insights into the three-dimensional architecture of sfRNA in complex with its interacting protein partners are important for the rational development of vaccines and antiviral agents designed to block sfRNA biogenesis or disrupt its functional interactions. Such structural and mechanistic insights will not only deepen our understanding of flavivirus-host interactions but also pave the way for targeted therapeutic strategies that exploit vulnerabilities in sfRNA-mediated immune evasion.

[References]

- 1) M. J. Adams, E. J. Lefkowitz, A. M. Q. King *et al.*, "50 years of the International Committee on Taxonomy of Viruses: progress and prospects", *Arch. Virol.*, **2017**, 162(5), 1441-1446.
- 2) S. Bhatt, P. W. Gething, O. J. Brady *et al.*, "The global distribution and burden of dengue", *Nature*, **2013**, 496(7446), 504-507.
- 3) T. J. Chambers, C. S. Hahn, R. Galler and C. M. Rice, "Flavivirus genome organization, expression, and replication", *Annu. Rev. Microbiol.*, **1990**, 44, 649-688.
- 4) A. A. Khromykh, H. Meka, K. J. Guyatt and E. G. Westaway, "Essential role of cyclization sequences in flavivirus RNA replication", *J. Virol.*, **2001**, 75(14), 6719-6728.
- 5) K. L. Holden and E. Harris, "Enhancement of dengue virus translation: role of the 3' untranslated region and the terminal 3' stem-loop domain", *Virology*, **2004**, 329(1), 119-133.
- 6) G. P. Pijlman, A. Funk, N. Kondratieva *et al.*, "A highly structured, nuclease-resistant, noncoding RNA produced by flaviviruses is required for pathogenicity", *Cell Host Microbe*, **2008**, 4(6), 579-591.
- 7) N. Urosevic, M. van Maanen, J. P. Mansfield *et al.*, "Molecular characterization of virus-specific RNA produced in the brains of flavivirus-susceptible and -resistant mice after challenge with Murray Valley encephalitis virus", *J. Gen. Virol.*, **1997**, 78(1), 23-29.
- 8) A. MacFadden, Z. O'Donoghue, P. Silva *et al.*, "Mechanism and structural diversity of exoribonuclease-resistant RNA structures in flaviviral RNAs", *Nat. Commun.*, **2018**, 9(1), 119.
- 9) A. Funk, K. Truong, T. Nagasaki *et al.*, "RNA structures required for production of subgenomic flavivirus RNA", *J. Virol.*, **2010**, 84(21), 11407-11417.
- 10) P. A. Silva, C. F. Pereira, T. J. Dalebout, W. J. Spaan and P. J. Bredenbeek, "An RNA pseudoknot is required for production of yellow fever virus subgenomic RNA by the host nuclease XRN1", *J. Virol.*, **2010**, 84(21), 11395-11406.
- 11) C. V. Filomatori, J. M. Carballeda, S. M. Villordo *et al.*, "Dengue virus genomic variation associated with mosquito adaptation defines the pattern of viral non-coding RNAs and fitness in human cells", *PLoS Pathog.*, **2017**, 13(3), e1006265.
- 12) Y. Liu, H. Liu, J. Zou, B. Zhang and Z. Yuan, "Dengue virus subgenomic RNA induces apoptosis through the Bcl-2-mediated PI3K/Akt signaling pathway", *Virology*, **2014**, 448, 15-25.
- 13) A. Slonchak, L. E. Hugo, M. E. Freney *et al.*, "Zika virus noncoding RNA suppresses apoptosis and is required for virus transmission by mosquitoes", *Nat. Commun.*, **2020**, 11(1), 2205.
- 14) G. P. Goertz, J. W. M. van Bree, A. Hiralal *et al.*, "Subgenomic flavivirus RNA binds the mosquito DEAD/H-box helicase ME31B and determines Zika virus transmission by *Aedes aegypti*", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2019**, 116(38), 19136-19144.
- 15) S. C. Yeh, T. Strilets, W. L. Tan *et al.*, "The anti-immune dengue subgenomic flaviviral RNA is present in vesicles in mosquito saliva and is associated with increased infectivity", *PLoS Pathog.*, **2023**, 19(3), e1011224.
- 16) G. Manokaran, E. Finol, C. Wang *et al.*, "Dengue subgenomic RNA binds TRIM25 to inhibit interferon expression for epidemiological fitness", *Science*, **2015**, 350(6257), 217-221.
- 17) T. Okamoto, T. Suzuki, S. Kusakabe *et al.*, "Regulation of apoptosis during flavivirus infection", *Viruses*, **2017**, 9(9).

- 18) A. Slonchak and A. A. Khromykh, "Subgenomic flaviviral RNAs: what do we know after the first decade of research", *Antiviral Res.*, **2018**, 159, 13–25.
- 19) R. Delli Ponti, A. Vandelli and G. G. Tartaglia, "Subgenomic flaviviral RNAs and human proteins: in silico exploration of anti-host defense mechanisms", *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **2024**, 23, 3527–3536.
- 20) E. G. Chapman, D. A. Costantino, J. L. Rabe *et al.*, "The structural basis of pathogenic subgenomic flavivirus RNA (sfRNA) production", *Science*, **2014**, 344(6181), 307–310.
- 21) O. Choksupmanee, W. Tangkijthavorn, K. Hodge *et al.*, "Specific interaction of DDX6 with an RNA hairpin in the 3' UTR of the dengue virus genome mediates G1 phase arrest", *J. Virol.*, **2021**, 95(17), e0051021.
- 22) K. Hodge, C. Tunghirun, M. Kamkaew *et al.*, "Identification of a conserved RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)-RNA interface required for flaviviral replication", *J. Biol. Chem.*, **2016**, 291(33), 17437–17449.
- 23) S. M. Paranjape and E. Harris, "Y box-binding protein-1 binds to the dengue virus 3'-untranslated region and mediates antiviral effects", *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282(42), 30497–30508.
- 24) A. M. Ward, K. Bidet, A. Yinglin *et al.*, "Quantitative mass spectrometry of DENV-2 RNA-interacting proteins reveals that the DEAD-box RNA helicase DDX6 binds the DB1 and DB2 3' UTR structures", *RNA Biol.*, **2011**, 8(6), 1173–1186.
- 25) K. Bidet, D. Dadlani and M. A. Garcia-Blanco, "G3BP1, G3BP2 and CAPRIN1 are required for translation of interferon stimulated mRNAs and are targeted by a dengue virus non-coding RNA", *PLoS Pathog.*, **2014**, 10(7), e1004242.
- 26) D. Michalski, J. G. Ontiveros, J. Russo *et al.*, "Zika virus noncoding sfRNAs sequester multiple host-derived RNA-binding proteins and modulate mRNA decay and splicing during infection", *J. Biol. Chem.*, **2019**, 294(44), 16282–16296.
- 27) N. R. Choudhury, G. Heikel, M. Trubitsyna *et al.*, "RNA-binding activity of TRIM25 is mediated by its PRY/SPRY domain and is required for ubiquitination", *BMC Biol.*, **2017**, 15(1), 105.
- 28) J. H. Lumb, Q. Li, L. M. Popov *et al.*, "DDX6 represses aberrant activation of interferon-stimulated genes", *Cell Rep.*, **2017**, 20(4), 819–831.
- 29) A. Slonchak, X. Wang, J. Aguado *et al.*, "Zika virus noncoding RNA cooperates with the viral protein NS5 to inhibit STAT1 phosphorylation and facilitate viral pathogenesis", *Sci. Adv.*, **2022**, 8(48), eadd8095.
- 30) K. Doets and G. P. Pijlman, "Subgenomic flavivirus RNA as key target for live-attenuated vaccine development", *J. Virol.*, **2024**, 98(7), e0010023.
- 31) S. S. Whitehead, A. P. Durbin, K. K. Pierce *et al.*, "In a randomized trial, the live attenuated tetravalent dengue vaccine TV003 is well-tolerated and highly immunogenic in subjects with flavivirus exposure prior to vaccination", *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2017**, 11(5), e0005584.
- 32) J. Bustos-Arriaga, G. D. Gromowski, K. A. Tsetsarkin *et al.*, "Decreased accumulation of subgenomic RNA in human cells infected with vaccine candidate DEN4Δ30 increases viral susceptibility to type I interferon", *Vaccine*, **2018**, 36(24), 3460–3467.
- 33) C. Shan, A. E. Muruato, B. T. D. Nunes *et al.*, "A live-attenuated Zika virus vaccine candidate induces sterilizing immunity in mouse models", *Nat. Med.*, **2017**, 23(6), 763–767.

[Contact]

Sarin Chimnaronk, Ph.D.

E-mail: sarin.chi@mahidol.ac.th

ORCID ID: 0000-0001-6113-3681

Laboratory of RNA Biology,

Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University.

25/25 Phutthamonthon 4 Road, Salaya, Nakhon Pathom 73170, Thailand.

Current research area: Viral RNA-host interaction, RNA virus replication, mRNA vaccine

開発中

エクソソーム精製キット

Exolsolator Exosome Isolation Kit II

<特長>

- ・操作が簡便で組み立てても不要
- ・キット付属のフィルターカップをお手持ちの 50 ml 遠沈管に取り付けて使用可能
- ・超遠心法と比べて高い回収効率

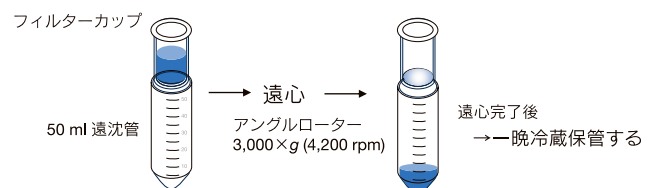
エクソソームは、細胞が分泌する細胞外小胞 (Extracellular vesicle: EV) の一種で、様々なタンパク質や核酸を内包し、それらを介して他の細胞に影響を与えることが知られています。近年、がんの悪性化や転移、間葉系細胞を用いた治療研究、診断への応用など、多くの分野で注目される重要な研究対象となっています。

Exolsolator Exosome Isolation Kit II は超遠心法よりも高い回収効率で細胞培養上清由来のエクソソームを得ることができるエクソソーム精製キットです。本キットは、カップ内にあらかじめフィルターがセットされており、培養上清を本フィルターカップ内に添加して遠心操作を行うだけでフィルター上にエクソソームを捕捉できます。複雑な操作を必要とせず、簡便にエクソソームの回収が可能です。

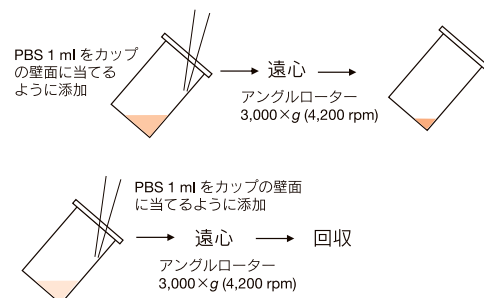
※開発中の製品は内容や仕様の変更がある場合があります。

<操作>

○濃縮操作 (10 ml 処理 : 4 ~ 6 時間)

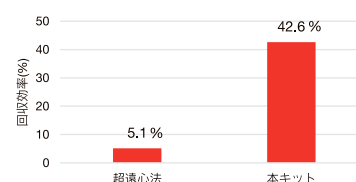


○精製操作 (10 ml 処理 : 4 ~ 6 時間)



<超遠心法との回収効率の比較>

ExoScreen 法にて超遠心法と本デバイスの回収効率を確認したところ、超遠心法よりも高い効率でエクソソームを回収できていることが分かりました。



超遠心法 : 培養上清 70 ml を処理後、250 μl で回収
本キット : 培養上清 10 ml を処理後、500 μl で回収

※本データは東京医科大学 医学総合研究所 吉岡祐亮先生にご提供いただきました。

代謝物分析のご案内 – 同仁グローバル

生体由来サンプルの脂肪酸、アミノ酸、核酸、糖などの同時一斉分析を行っています。

<代謝化合物分析をご検討の皆様へ>

生物は生命活動を維持するために有機反応を行っています。生物単体で進む反応もあれば、あるいは多数の生物の集合体として協調、競合において進む反応もあり、アミノ酸、糖、脂肪酸、核酸、その他低分子化合物、酸化体、還元体、加水分解物などが生じます。それら低分子化合物を分子種にかかわらず分析するために、株式会社同仁グローバルでは代謝化合物を含むサンプルをメチル化、オキシム化トリメチルシリル化反応等で誘導体化し GC/MS 分析を行っています。

様々な生体サンプル代謝物分析の豊富な実績がありますので、是非ご相談ください。

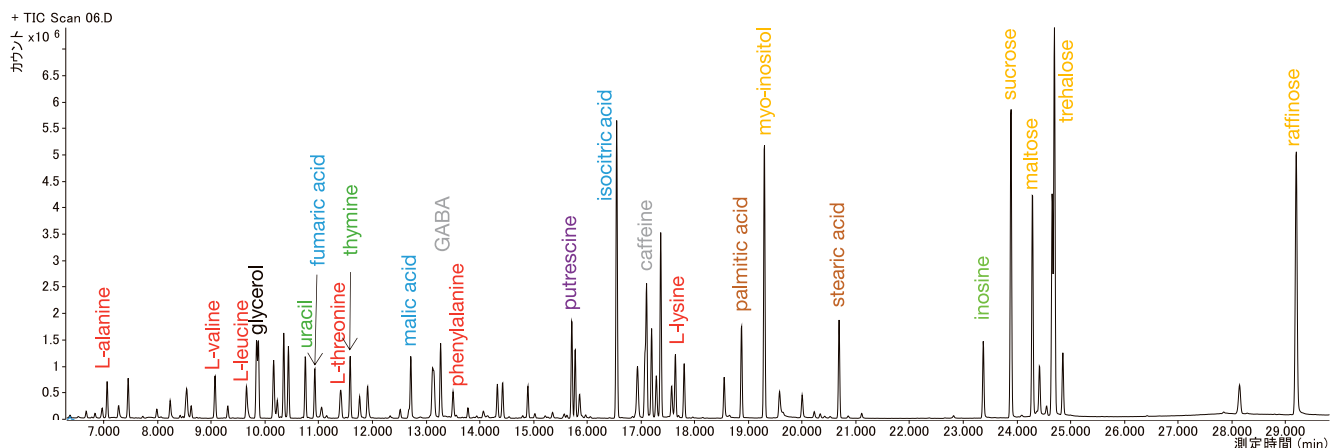
<評価例>

- ◆組織（動植物）、血液（全血、血球、血漿、血清）、体液、排泄物
- ◆培養細胞、培養細胞抽出物、細胞培養液
- ・標準品を用いた特定代謝化合物のモニタリング（ターゲット解析）
- ・検出可能な代謝化合物のモニタリング（ノンターゲット解析）
- ・機能性成分の探索 - 成分の発見
- ・風味・香りの解析
- ・異常の原因調査

- ◆菌、発酵物
- ◆加工食品

<分析方法>

誘導体化：オキシム化トリメチルシリル化 分析装置：GC/MS（アジレント・テクノロジー社製）



アミノ酸、核酸、有機酸、有機アミン、脂肪酸、糖、神経作用物質

<標準物質例>

glucose	lactose	xanthine	trans-aconitic acid	valine	glycine	Lysine
fructose	citric acid	2-ketoglutaric acid	glycolic acid	alanine	methionine	glutamine
myo-inositol	thymine	pyruvic acid	palmitic acid	leucine	histidine	ornithine
maltose	uracil	isocitric acid	stearic acid	isoleucine	phenylalanine	glycerol
raffinose	adenine	malic acid	aspartic acid	serine	cysteine	putrescine
trehalose	inosine	succinic acid	tryptophan	threonine	glutamic acid	γ-aminobutyric acid
sucrose	cytosine	fumaric acid	tyrosine	proline	asparagine	caffeine

一部を掲載してあります。記載のない物質の分析についてもご相談ください。

株式会社同仁グローバル

<お問合せ>

Tel 096-286-1311
Fax 096-286-1312
glocal@dojindo.co.jp



同仁グローバル

検索

www.dojin-glocal.com

代謝物分析



開催後記

第 35 回フォーラム・イン・ドージン

「フェロトーシス研究の進化と展望～フェロトーシスが語る細胞の運命を握る鉄の力～」

第 2 回 Dojindo Forum in China

「Mitochondrial Physiology and Function」

第 35 回フォーラム・イン・ドージン

2012 年にコロンビア大学の Stockwell 教授らにより提唱されたフェロトーシス（鉄に依存した細胞死）が心筋梗塞や脳卒中などの虚血性疾患、アルツハイマー病やパーキンソン病、ALS などの神経変性疾患、がんや肝炎など様々な疾患との関連性が明らかとなり、近年注目を集めている。昨年、日本に先んじてこのフェロトーシスをテーマとして第 1 回 Dojindo Forum in China を開催し大盛況であった。今年は舞台を日本に移し、第 35 回フォーラム・イン・ドージンのテーマ（「フェロトーシス研究の進化と展望～フェロトーシスが語る細胞の運命を握る鉄の力～」）として 10 月 24 日に開催した。フェロトーシスの提唱者である Stockwell 教授にアメリカからウェブ配信にて、また国内のフェロトーシス研究のトップランナー 6 名の先生方には熊本にお越しいただき、ご講演頂いた。講演はウェブ配信され、当日の聴講者は 300 名を超えた。座長は例年通り、熊本大学富澤一仁教授、三隅将吾教授に務めて頂いた。以下講演タイトルと演者の先生方を記す（講演プログラム順）。

「Ferroptosis and Metabolism: Mechanisms and Therapeutic Implications」

Brent R. Stockwell 教授（コロンビア大学）

「フェロトーシスとリポキシン系脂質酸化の鉄依存性と細胞死経路の違い」

今井 浩孝 教授（北里大学）

「フェロトーシス研究を加速する二価鉄蛍光イメージングプログラムの開発」

平山 祐 教授（岐阜薬科大学）

「細胞の鉄動態とフェロトーシス感受性」

諸石 寿朗 教授（東京科学大学）

「細胞内鉄ダイナミクスが制御する細胞運命」

築取 いずみ 講師（京都大学）

「心血管病におけるフェロトーシス」

池田 昌隆 特任助教（九州大学病院別府病院）

「がん研究におけるフェロトーシスの意義」

豊國 伸哉 教授（名古屋大学）

今回は近年注目されているフェロトーシス研究がテーマということもあり、基礎研究から臨床分野に至る幅広い議論が活発に行われ、大盛況のうちにフォーラムを終えることができた。フェロトーシスは多くの疾病に関与していることが明らかとなっており、今後はその詳細なメカニズム解明とフェロトーシスをターゲットとした治療法の開発が待ち望まれる。

第 2 回 Dojindo Forum in China

近年、中国ではライフサイエンス分野の研究が目覚ましい進展を遂げており、世界的にも注目を集めている。特に、ゲノム編集技術やバイオ医薬品の開発、人工知能を活用した創薬などの領域

で、革新的な成果が次々と生まれている。第 2 回目となる今年は、ミトコンドリア研究にフォーカスし、「Mitochondrial Physiology and Function」というタイトルで 11 月 1 日に上海にある Okura Garden Hotel で開催した。中国国内外から 5 名の先生をお招きし、最新の研究内容を発表していただいた。講演は日本と同様オンライン形式により配信された。聴講者は 4100 名を超え、ミトコンドリア研究の熱さを感じた。

大阪大学石原直忠教授によるミトコンドリア研究のオーバービューのご講演からスタートした。以下講演タイトルと演者の先生方を記す（講演プログラム順）。

「Dynamics of mitochondrial membranes and genome: Protection against mitochondrial dysfunction」

石原 直忠 教授（大阪大学）

「Novel regulatory mechanisms of mitophagy by targeting PINK 1」

Hanming Shen 教授（University of Macau）

「The mitochondrial permeability transition pore: past, present and future」

Paolo Bernardi 教授（University of Padova）

「The mitochondrial relay with the nucleus: form and function」

Michelangelo Campanella 教授（Queen Mary University of London）

「Mitochondrial quality and the quality of life」

Xu-Dong Liao 教授（Nankai University）

今回の講演では、ミトコンドリアはエネルギー産生だけではなく、融合と分裂によりその機能と品質を動的に管理していることが示された。そして、損傷したミトコンドリアは「マイトファジー」という仕組みで除去され、細胞の健康を維持している。この恒常性維持システムの破綻は、神経変性疾患やがんなど多くの疾患に関与するため、重要な治療標的とされていることが示された。

（大内雄也、石山宗孝）



小社へのお問い合わせ等は下記 HP よりお願いします
URL : <https://www.dojindo.co.jp/>

次号テーマ

計算化学、フェロトーシス