

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07173

研究課題名（和文）フローサイトメトリーを用いた細胞外小胞の1粒子解析

研究課題名（英文）Single-particle analysis of extracellular vesicles using a flow cytometer

研究代表者

吉田 孟史（Yoshida, Takeshi）

金沢大学・ナノ生命科学研究所・特任助教

研究者番号：60635100

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本課題ではフローサイトメトリーを用いて細胞外小胞（sEV）を特異的かつ高感度に定量する方法の構築に取り組んだ。抗体染色したsEVから未結合抗体を洗浄する方法について検証した結果、サイズ排除クロマトグラフィー法やTIM4アフィニティー法が洗浄法として適していることを明らかにした。このsEVのフローサイトメトリー解析系をがん細胞分泌sEVの解析やsEVの産生経路の解析などに利用することで、レアポピュレーションの高感度検出やsEVの多様性解析を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん、神経変性疾患、免疫など様々な疾患で、細胞が30-150 nmのサイズの細胞外小胞（sEV）を介してタンパク質や核酸などの情報を伝播することが知られており、sEVは創薬標的や診断マーカーとして注目されている。本課題は、sEVに搭載されたタンパク質や核酸を一粒子レベルで解析する技術の開発に成功した。これにより、血液などに微量に存在する疾患由来sEVの高感度検出や疾患関連sEVの産生経路の特定が可能となり、sEVを標的とした診断や治療薬の開発が加速すると期待される。

研究成果の概要（英文）：We have attempted to develop a method that can specifically and sensitively detect small extracellular vesicles (sEVs) using a flow cytometer. As a result of the validation of several methods for washing unbound antibodies from antibody-stained sEVs, we found that the size exclusion chromatography method and the TIM4-affinity method showed excellent performance. This flow cytometry analysis for sEVs was applied to the analysis of cancer cell-secreted sEVs and sEV biogenesis, and realized highly sensitive detection of rare population and revealed sEV heterogeneity depending on the biogenesis pathways.

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞外小胞 ホスファチジルセリン フローサイトメトリー リキッドバイオプシー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内の多くの細胞は直径 30-150 nm の細胞外小胞 (sEV; small extracellular vesicle) を分泌することで細胞間情報伝達や代謝物の排出を行う。sEV には分泌細胞由来のタンパク質、核酸、脂質などが内包され、受け手の細胞に様々な作用を及ぼす。特に、がん細胞が分泌する sEV は、転移、浸潤、血管新生、免疫制御など多様な機能を担い病態と深く関連する。sEV の測定によるがん診断法の開発も進んでおり、血液など体液中の sEV が RTqPCR 法などにより解析されるが、多様な組織由来 sEV が混在する試料から RNA を抽出し解析する為、マーカー遺伝子は他の遺伝子に埋もれてしまい、病気が進行しなければ検出が困難である。また、2 種類以上のマーカー遺伝子の解析による診断精度の改善も試みられているが、単一の sEV に 2 種類のマーカー遺伝子が発現しているのか異なる sEV にそれぞれのマーカー遺伝子が発現しているのかは判別できない為、診断精度の改善は限られる。sEV の 1 粒子解析は、疾患由来 sEV の存在率が低い試料でも、陽性率は低くてもシグナル強度の低下は起きないので高い精度での検出が可能であり、複数マーカーを用いたダブルポジティブ sEV の解析も可能であり、診断精度の上昇が期待できる。

2. 研究の目的

sEV の解析法には Nanoparticle Tracking Analysis (NTA 法)、ウェスタンブロット法、ELISA 法、電子顕微鏡観察などが用いられる。1 粒子解析が可能な方法として NTA 法と電子顕微鏡観察が挙げられるが、実際に測定する粒子数は多くても数十粒子と少ないこと、複数マーカーの解析が不可能であることから、得られる情報量は限られる。フローサイトメトリーは蛍光標識抗体で染色した細胞を 1 細胞レベルで解析可能であり、数十秒で数万細胞を解析可能な手法である。特に免疫学の分野で汎用されており、わずかしかな存在しない特殊な免疫細胞 (rare population) の機能解析や非常によく似た 2 種類の免疫細胞の識別に力を発揮する。これらの特性から、フローサイトメーターを用いて sEV の解析が可能となれば、より高精度な疾患診断法として有用である。しかし、sEV は細胞と比較して $1/10^6$ の体積しかなく、シグナルの低下、超遠心機による試料調製、単粒子検出が可能であるかの検証など実用化への課題は多い。本研究では、これらの課題に取り組むことで、sEV に発現しているタンパク質、脂質、miRNA、粒子数濃度を定性あるいは定量解析可能な測定方法を確立し、がん診断法に資するフローサイトメーターを用いた sEV 解析法の構築を目指す。

フローサイトメーターを用いた sEV の解析では、高感度検出、多検体の調製、高純度の精製が重要となる。これまでに私は、sEV 表面に多く露出しているホスファチジルセリン (PS) に強く結合するタンパク質 TIM4 を用いて、sEV の高純度精製法および高感度検出法を確立してきた。さらに現在、PS 以外の脂質に結合する分子を取得しており、独自の sEV 精製・検出技術を確立している。この技術をフローサイトメーターを用いた 1 粒子 sEV 解析に応用することで、高感度検出法を構築する。本技術は疾患診断法、創薬基盤技術、基礎研究の発展に大きく貢献することが期待できる。

近年、免疫系をはじめとして多様な生理現象に sEV が関わっていることが明らかとなっている。sEV の生理的機能の解明が進むにつれ、それらを活用した機能性 sEV 薬 (人工的に作製した sEV を利用した薬) の開発が行われている。将来、機能性 sEV 薬が製造される際には sEV の品質管理が必要となるが、既存の方法では 1 粒子レベルでの品質管理は不可能である。本研究で開発する解析技術は、sEV の品質管理の目的でも有用である。

3. 研究の方法

(1) 細胞

ヒト胎児腎細胞 293T 細胞 (理研 BRC)、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 OSC-19 細胞 (#0198, JCRB) および HOC313 細胞は、100 units/mL ペニシリン、100 μ g/mL ストレプトマイシン、2 mM L-グルタミン、10% 非働化 FBS (ニチレイバイオサイエンス) を添加した DMEM 中で 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ で培養した。CD9、CD63、CD81、ALIX、HGS、TSG101 ノックアウト (KO) 293T 細胞は、CRISPR/Cas9 システムを用いて樹立した。

(2) sEV 解析のための細胞培養上清の調製

sEV 除去 FBS は、10mL の FBS を 2mL の 50% PEG-10,000 と混合し、4 $^{\circ}$ C で一晩穏やかに回転させた後、混合物を 1500 \times g、4 $^{\circ}$ C で 30 分間遠心することで調製した。細胞は、2% sEV 除去 FBS 添加 Advanced DMEM 中で 80% コンフルエントになるまで培養した。培養上清を回収し、300 \times g で 5 分間、2000 \times g で 20 分間、10,000 \times g で 30 分間、順次遠心し、10,000 \times g 遠心後の上清 (10K sup) を回収した。S50ST スイングローター付き CS100FNX (日立) を用いて 100,000 \times g で 2 時間超遠心し、10K sup に含まれる sEV を濃縮し、ペレットを結合エンハンサー含有 Immobilizing バッファーに再懸濁して UC sEV を生成した。10K sup または UC sEV を染色に用いた。PD-L1⁺-sEV を解析するために、細胞を 100 ng/mL の組換えヒト IFN- γ (BioLegend) を含む 2% sEV 欠失 FBS 添加 Advanced DMEM で 37 $^{\circ}$ C、24 時間培養した。

(3) 超遠心法による抗体染色 sEV の洗浄

UC sEV を蛍光標識抗体で 20 μ L の Immobilizing バッファー中、室温で 2 時間染色した。染色した sEV を 7 mL の PBS で洗浄し、CS100FNX と S50ST スイングローターを用いて 100,000 \times g で 2 時間超遠心した。上清を捨てた後、ペレットを 100 μ L の 1% EV-Save/PBS (富士フイルム和光純薬) に懸濁した。

(4) サイズ排除クロマトグラフィー法 (SEC) による抗体染色 sEV の洗浄

SEC カラム (qEV35、IZON) を 8.5 mL の 2 mM CaCl_2 /TBS バッファー (TBS-Ca) で平衡化した後、20 μ L の染色 sEV と 480 μ L の TBS-Ca をカラムに加えた。2 mL の TBS-Ca でカラムを洗浄した後、2 mL の TBS-Ca で sEV を溶出し、20 μ L の EV-Save を加えた。

(5) TIM4-アフィニティー精製法による抗体染色 sEV の洗浄

TIM4-ビーズは、MagCapture Exosome Isolation Kit PS Ver.2 (富士フイルム和光純薬) に含まれる 0.06 mg のストレプトアビジン磁気ビーズと 0.1 μ g の TIM4-ビオチンを混合して調製した。sEV は TIM4-beads による捕捉前または捕捉後に染色した。捕捉前に染色する場合は、UC sEV を 20 μ L の Immobilizing バッファー中で蛍光標識抗体で 2 時間染色した。0.06mg の TIM4-ビーズを 4 で 1 時間回転させながら反応させた。捕捉後に染色する場合は、1 mL の 10K sup を TIM4-ビーズを用いて 4 で 1 時間回転させながら sEV を捕捉し、1 mL の TBS-Ca で 3 回洗浄した後、1% EV-Save を含む 50 μ L の溶出バッファーを 2 回加えて、TIM4-ビーズから sEV を溶出した。

(6) sEV のフローサイトメトリー解析

sEV フローサイトメトリーのシースフローに使用するため、MilliQ 水を Millex-GS 0.22 μ m MCE 膜 (メルク社) で 3 回ろ過した。sEV は、2 つのレーザー (488 nm と 638 nm) と 3 つのバンドパスフィルター (488/10、525/40、580/40) を装備した Flow Nanoanalyzer (NanoFCM) を用いて分析した。シリカナノ粒子カクテル (68-155 nm, NanoFCM) と 250 nm ポリスチレンビーズ (QC Beads, NanoFCM) をそれぞれサイズと粒子濃度のリファレンスとして使用した。全てのサンプルは一定圧力 (1 kPa) で流し、SS、FITC、PE のシグナルを記録した。

4. 研究成果

sEV の純度は、その検出において最も重要な要素の一つである。フローサイトメトリー解析に適した sEV 洗浄法を検討するために、293T 野生型 (WT) 細胞または CD9 KO 細胞の sEV を FITC-抗 CD9 抗体で染色し、超遠心法、密度勾配遠心法、SEC 法または TIM4-アフィニティー法で洗浄した。超遠心分離による洗浄では、CD9 KO-sEVs の偽陽性率は 83% であった。さらに、約 160~180 nm の凝集した sEV も検出された。密度勾配遠心による洗浄では、FITC-抗 CD9 抗体を含み sEV を含まないサンプルで多くの偽陽性シグナルが検出され、抗体と sEV を分離できなかった。SEC による洗浄では、WT-sEV の陽性率は 49.3%、CD9 KO-sEV の陽性率は 3.0% であり、これまでの洗浄法に比べて高い効果が得られた。TIM4-アフィニティー法による洗浄では、WT-sEV の陽性率は 39.4%、CD9 KO-sEV の陽性率は 5% 未満であり、SEC と同様の結果が得られた。TIM4-アフィニティー法は、CD63 と CD81 の染色においても良好な結果を示した。抗体の濃度を変えて染色すると、CD9 の染色は 2.5 μ g/mL 以下では不十分で、5 μ g/mL 以上では十分であった。10 μ g/mL の抗体で処理においても、抗体は完全に洗浄除去可能であり、CD9 KO-sEV への非特異的結合は観察されなかった。これらのデータは、SEC や TIM4-アフィニティー法を含む高純度分離法が、sEV を抗体で染色するのに適していること、そして抗体濃度が重要な因子であることを示している。

sEV の不均一性の解析は、sEV の生合成機構や sEV 関連疾患の理解に有用であるが、複数抗体で染色した sEV の検出が困難であるため、一般には適用されていない。そこで、高純度 sEV 精製法を二重染色した sEV の検出に適用できるかを検証した。293T WT 細胞または CD63 KO 細胞の sEV を FITC-抗 CD9 抗体と PE-抗 CD63 抗体で二重染色し、超遠心法、SEC 法、

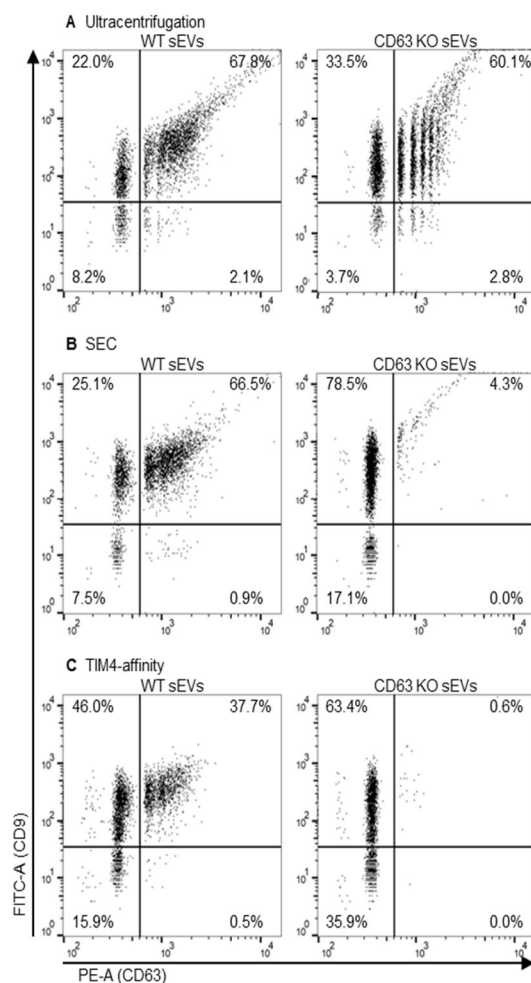


図1 sEV 洗浄方法の評価

293T WT 細胞または CD63 KO 細胞が分泌した sEV を超遠心分離で回収し、FITC 標識 CD9 抗体および PE 標識 CD63 抗体で染色した。染色 sEV を超遠心法 (A)、SEC 法 (B)、または TIM4-アフィニティー法 (C) で洗浄しフローサイトメーターを用いて検出した。

または TIM4-アフィニティー法で洗浄した。超遠心法では、CD63 KO-sEV の 60%以上が偽陽性として検出され、超遠心による洗浄が有効でないことが示された (図 1A)。SEC 法では、CD63 KO-sEV の 4.3%、WT-sEV の 67.4% が CD63⁺-sEV として検出された (図 1B)。TIM4 アフィニティー法では、CD63 KO-sEV の 0.6%、WT-sEV の 38.2% が CD63⁺-sEV として検出された (図 1C)。さらに、CD9⁺-sEV の割合は、SEC 法でも TIM4-アフィニティー法でも WT-sEV と CD63 KO-sEV の間で同程度であり、二重染色が抗体間の競合を促進しないことを示している (図 1B,C)。

TIM4-アフィニティー法では PS に露出した sEV しか捕捉できないため、PS⁺-sEV に偏った結果が得られる可能性があることに注意すべきである。sEV フローサイトメトリーを用いて PS⁺-sEV と PS⁻-sEV の特徴を分析し、亜集団間の差異を明らかにした。sEV フローサイトメトリーを用いて、PS⁺-sEV と PS⁻-sEV の特徴を解析し、亜集団間の違いを明らかにした。NTA 解析の結果、PS⁻-sEV は 293T 細胞の全 sEV の 6.04% を占めた。3 つの sEV マーカーである CD9、CD63、CD81 の発現比は、すべての sEV と PS⁺-sEV でほぼ同じであったが、各マーカーの単一陽性 sEV の比率は、PS⁻-sEV の方がわずかに高い傾向があった。これらのデータは、TIM4-アフィニティー法で回収された sEV は sEV 集団の大部分を占め、全 sEV とほぼ同じ sEV マーカーを反映していることを示している。

構築したフローサイトメーターを利用した sEV の一粒子解析法の有用性をがん細胞分泌 sEV の解析実験および分泌経路の異なる sEV の解析実験において検証した。がん細胞分泌 sEV の解析実験では、口腔がん患者由来細胞 HOC313、OSC-19 細胞において IFN- γ 刺激による PD-L1 発現誘導の検出を試みた。その結果、OSC-19 細胞では IFN- γ 刺激によって PD-L1 陽性 sEV が 2.0% から 4.7% に上昇することを明らかにした (図 2B)。一方、HOC313 細胞では IFN- γ 刺激による細胞の PD-L1 発現上昇は顕著であったが、PD-L1 陽性 sEV の割合にはほとんど変化が見られなかった (図 2A)。以上のように、PD-L1 陽性 sEV は一部の sEV に限られること、そしてその割合は細胞によって大きく異なることが明らかとなった。

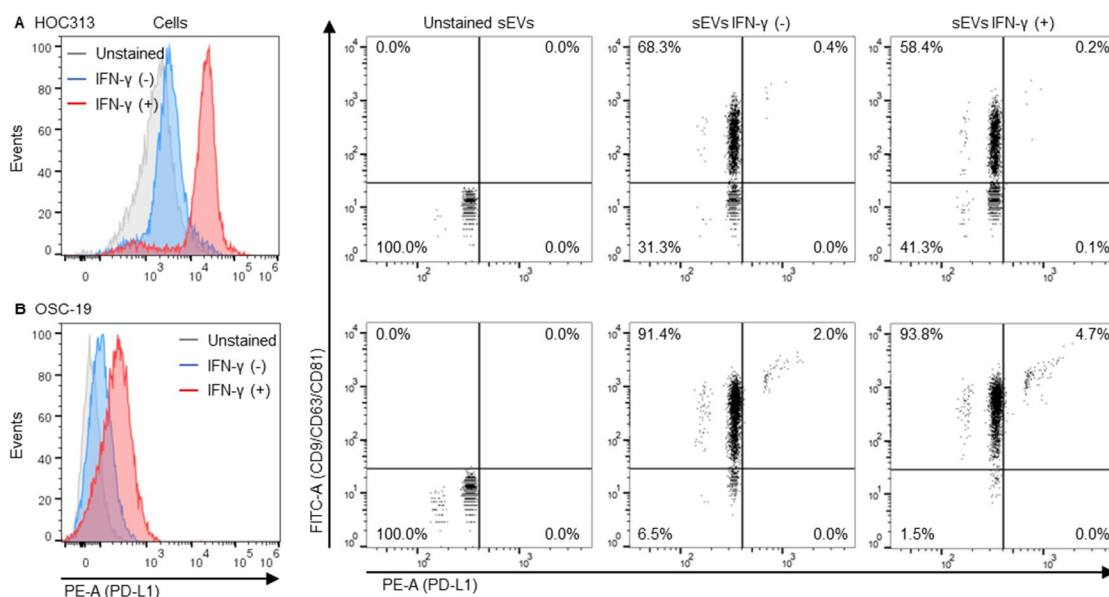


図 2 ヒト扁平上皮癌における細胞と sEV の PD-L1 発現の解析

HOC313 細胞 (A) または OSC-19 細胞 (B) を、0 または 100 ng/mL IFN- γ を含む Advanced DMEM-2% sEV 除去 FBS で 24 時間培養した。sEV を TIM4-アフィニティービーズで捕捉し、FITC 標識抗 CD9、抗 CD63、抗 CD81、PE 標識抗 CD274 抗体の混合物で 2 時間染色した。細胞、未染色 sEV、染色 sEV/IFN- γ (-)、染色 sEV/IFN- γ (+) を分析した。

分泌経路の異なる sEV の解析では、ALIX、HGS または TSG101 を欠損した 293T 細胞が分泌する sEV についてテトラスパンニン (CD9、CD63、CD81) の発現を解析した。ALIX を欠失すると、CD9⁺/CD81⁺-sEV、CD63⁺/CD81⁺-sEV の割合に変化はなかったが、CD9⁺/CD63⁺-sEV は 27% 減少した (図 3)。このことから、ALIX が CD9⁺/CD63⁺-sEV の生成に関与していることが示唆された。HGS を欠失すると、CD63⁺-sEVs は 43.3% 減少した (図 3)。これは、CD9⁺/CD63⁺-および CD63⁺/CD81⁺-sEVs の両レベルの減少が原因であり、HGS が CD63⁺-sEVs 全体の生成に関与していることが示唆された。TSG101 を欠失させると、CD63⁺-、CD9⁺-、および CD81⁺-sEV のレベルが減少し、二重陰性 sEV の数が増加した (図 3)。これらの所見は、TSG101 が多様な sEV の生成に関与し、HGS と ALIX が限られた sEV 亜集団の生成に寄与していることを示唆している。sEV のフローサイトメトリーは、がん由来 sEV の診断や分子生物学的解析に有用であることが示された。

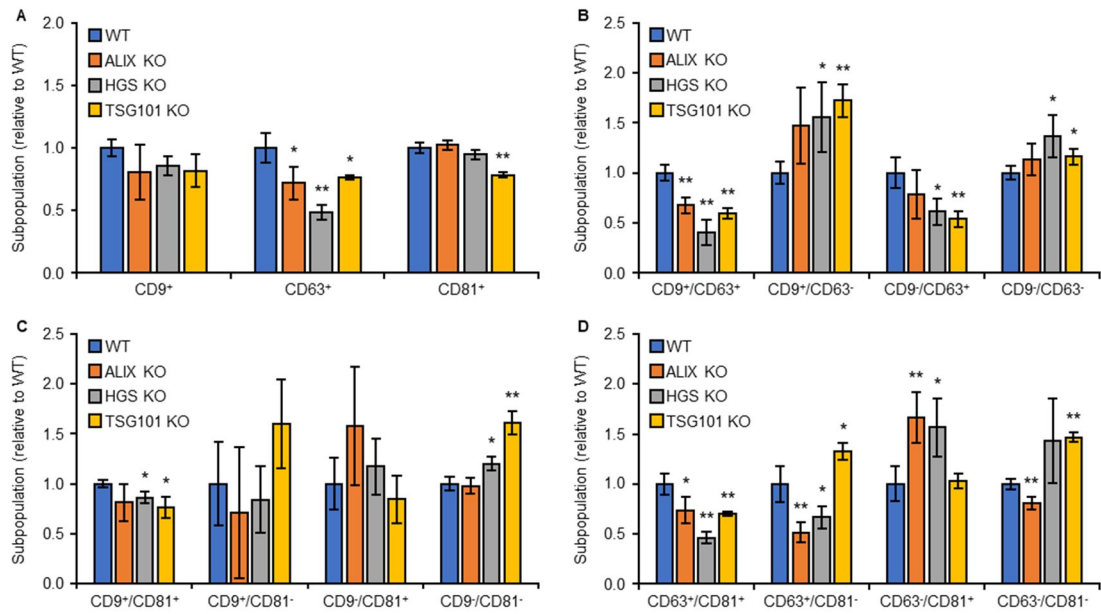


図3 様々な sEV 生合成経路による sEV の不均一性の解析

293T WT、ALIX KO、HGS KO、または TSG101 KO 細胞を Advanced DMEM-2% sE 除去 FBS で 48 時間培養した。sEV を TIM4-アフィニティービーズで捕捉し、抗体なし、FITC 標識抗 CD9 抗体と PE 標識抗 CD63 抗体、FITC 標識抗 CD9 抗体と PE 標識抗 CD81 抗体、または FITC 標識抗 CD63 抗体と PE 標識抗 CD81 抗体で 2 時間染色した。sEV 結合 TIM4 ビーズを洗浄後、sEV をビーズから遊離させ、フローサイトメーターを用いて検出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Lim Keesiang, Nishide Goro, Sajidah Elma Sakinatus, Yamano Tomoyoshi, Qiu Yujia, Yoshida Takeshi, Kobayashi Akiko, Hazawa Masaharu, Ando Toshio, Hanayama Rikinari, Wong Richard W.	4. 巻 23
2. 論文標題 Nanoscopic Assessment of Anti-SARS-CoV-2 Spike Neutralizing Antibody Using High-Speed AFM	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nano Letters	6. 最初と最後の頁 619 ~ 628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.2c04270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yang Xi, Yoshida Takeshi, Hanayama Rikinari	4. 巻 2
2. 論文標題 EVs and Communication	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Encyclopedia of Cell Biology. Bradshaw R. eds. (Elsevier)	6. 最初と最後の頁 390 ~ 400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-821618-7.00151-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sajidah Elma Sakinatus, Lim Keesiang, Yamano Tomoyoshi, Nishide Goro, Qiu Yujia, Yoshida Takeshi, Wang Hanbo, Kobayashi Akiko, Hazawa Masaharu, Dewi Firli R. P., Hanayama Rikinari, Ando Toshio, Wong Richard W.	4. 巻 11
2. 論文標題 Spatiotemporal tracking of small extracellular vesicle nanotopology in response to physicochemical stresses revealed by HS AFM	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Extracellular Vesicles	6. 最初と最後の頁 12275 ~ 12275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jev2.12275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Takeshi, Hanayama Rikinari	4. 巻 2466
2. 論文標題 TIM4-Affinity Methods Targeting Phosphatidylserine for Isolation or Detection of Extracellular Vesicles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)	6. 最初と最後の頁 23 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2176-9_2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lim Keesiang, Nishide Goro, Yoshida Takeshi, Watanabe Nakayama Takahiro, Kobayashi Akiko, Hazawa Masaharu, Hanayama Rikinari, Ando Toshio, Wong Richard W.	4. 巻 10
2. 論文標題 Millisecond dynamic of SARS CoV 2 spike and its interaction with ACE2 receptor and small extracellular vesicles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Extracellular Vesicles	6. 最初と最後の頁 e12170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jev2.12170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ma Yunfei, Yoshida Takeshi, Matoba Kazutaka, Kida Katsuhiko, Shintani Rito, Piao Yingshi, Jin Jingchun, Nishino Taito, Hanayama Rikinari	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of small compounds regulating the secretion of extracellular vesicles via a TIM4-affinity ELISA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92860-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nguyen Tuan Duc, Miyatake Yuji, Yoshida Takeshi, Kawahara Hironori, Hanayama Rikinari	4. 巻 148
2. 論文標題 Tumor secreted proliferin 1 regulates adipogenesis and lipolysis in cachexia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1982 ~ 1992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.33418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Araki Yoshihiro, Aiba Hisaki, Yoshida Takeshi, Yamamoto Norio, Hayashi Katsuhiko, Takeuchi Akihiko, Miwa Shinji, Igarashi Kentaro, Nguyen Tuan D., Ishii Kiyoko, Nojima Takayuki, Takahashi Satoru, Murakami Hideki, Tsuchiya Hiroyuki, Hanayama Rikinari	4. 巻 11
2. 論文標題 Osteosarcoma-Derived Small Extracellular Vesicles Enhance Tumor Metastasis and Suppress Osteoclastogenesis by miR-146a-5p	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 11:667109.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2021.667109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田孟史, 馬雲飛, 的場一隆, 木田克彦, 西野泰斗, 華山力成
2. 発表標題 TIM4-ELISA法を用いた細胞外小胞の分泌制御剤の探索
3. 学会等名 第8回日本細胞外小胞学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

SARS-CoV-2スパイクタンパク質に対する中和抗体の作用機序を高速原子間力顕微鏡で可視化 https://nanolisi.kanazawa-u.ac.jp/highlights/24222/ 世界初！高速原子間力顕微鏡で細胞外小胞の ナノ構造変化を捉えることに成功！ https://nanolisi.kanazawa-u.ac.jp/highlights/23711/ エクソソーム分泌の促進剤・抑制剤を同定 https://nanolisi.kanazawa-u.ac.jp/achievements/achievements-17206/ 細胞外小胞による骨肉腫の進展機構を解明 https://nanolisi.kanazawa-u.ac.jp/achievements/achievements-16826/ 世界初！高速AFMで新型コロナウイルススパイクタンパク質の分子ナノ動態を可視化！ https://nanolisi.kanazawa-u.ac.jp/achievements/achievements-18490/
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------