

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00901

研究課題名(和文) 分子演算システムによる腫瘍由来核酸の高速パターン診断

研究課題名(英文) Rapid pattern recognition of OncomiR by DNA computation

研究代表者

川野 竜司 (Kawano, Ryuji)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90401702

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,100,000円

研究成果の概要(和文)：本提案ではDNAコンピューティング技術とナノポア計測によるラベルフリーDNA分子検出法を組み合わせることにより、早期がん診断マーカーとして期待されるmicroRNA(miRNA)群のがんパターン診断法の構築をめざした。本研究では胆管癌時に発現亢進する5種miRNAパターン認識法が、実際のがん患者の血液検体にも適用可能であることを見出し、これまでナノポア計測では計測不可能であった超低濃度領域(~fM)のmiRNAを検出も可能とした。また液液相分離を利用した濃縮抽出技術も開発した。これらに関連する成果に関して、JACS Auを含む査読付き論文、および国内外の複数の学会において公表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、DNAコンピューティングの並列情報処理を利用し、ナノポア計測と組合すことで、腫瘍由来miRNAのパターン診断法を開発した。実際に患者からの実検体からの識別にも成功し、現在病院、動物病院と共同研究で、ヒトの胃癌、口腔扁平上皮癌、イヌの各種簡易・安価なリキッドバイオブシー法として実用化を進めている。

研究成果の概要(英文)：In this project, we aimed to construct a cancer pattern diagnostic method for microRNAs (miRNAs), which are expected to be used as early-stage cancer diagnostic markers, by combining DNA computing technology and a label-free DNA molecule detection method using nanopore measurement. In this study, we found that the five miRNA pattern recognition method, which is up-regulated in cholangiocarcinoma, can be applied to blood samples from actual cancer patients, and we were able to detect miRNAs in the ultra-low concentration range (~fM), which had been impossible to measure using nanopore measurement. We also developed an extraction technique using liquid-liquid phase separation. These results have been published in peer-reviewed journals including JACS Au, and at several domestic and international conferences.

研究分野：マイクロ分析化学

キーワード：DNAコンピューティング microRNA ナノポア リキッドバイオブシー

## 1. 研究開始当初の背景

国立がん研究センターが公表した最新のデータによると、がん(悪性腫瘍)は病死の死因第1位(約30%)で2位の心疾患のおよそ2倍となっている。とはいえ最新の診断法や治療法の発展のおかげで、がんは以前より「死なずにすむ疾患」となってきた。例えば罹患5年後の相対生存率を見てみると、前立腺癌や皮膚癌、乳癌でおよそ90%、死亡数の多い胃癌でも63%となっている。一方で、膵臓癌(7%)や胆管癌(23%)のように診断後の生存率が極端に低いがん種もある。がんの生存率を大きく決める要因として早期発見が挙げられる。なるべく初期のステージでがんを診断できれば生存率が飛躍的に上昇することが知られている。一般的に生存率の高いがんは診断の容易ながんで、生存率の低いがんは診断が困難ながんであると言える。例えば膵臓癌では診断時ステージⅠが6%、ステージⅣが47%とがん診断時には手遅れと言って良いほど進行している状態で見ついている。従って、このような死亡率の高いがんでは早期診断法の開発が急務である。

早期のがん診断のためには精度の高い診断法を開発するだけでは不十分で、自分では健康だと感じている人が診断を受診しなければならない。例えば胃が痛くなって病院を受診し胃癌が見つかるケースが多い一方で、膵臓や肝臓、胆管はサイレント臓器とも呼ばれなかなか自覚症状が現れない。このようながんを早期診断するためには、理想的には健康診断での低侵襲な簡易診断法が望まれ、健診で採取した血液、尿から診断できれば最も効果が期待できる。一般的にがんの診断は、1)腫瘍を見つけ、2)それが悪性かどうか判断する、ことで行う。1)の腫瘍を見つけるためにCTやMRIなどの画像診断が行われる。2)の悪性かどうかを判断するためには、腫瘍から細胞を採取し(細胞診または細胞生検)、その形態の観察および生化学、遺伝子検査が行われる。1)は早期発見が困難で、2)は侵襲性が高いことが課題である。最近では血液中に存在する腫瘍マーカータンパク質からの診断法も開発されているが、偽陰性、偽陽性の割合が高く、実際にはがんではないのにがんの可能性があると診断から生じる心理的負担が大きいことが社会的に問題となっている。

ごく最近、体液中に含まれる腫瘍由来の細胞や核酸を用いて低侵襲な診断を可能とするリキッドバイオプシーの概念が広がりつつある。体液中に含まれるマーカー候補物質のうち microRNA(miRNA)と呼ばれる短鎖の non-coding RNA は、細胞外小胞に内包されて循環しており体液中での安定性が高いことから最も注目を集めている。miRNA は遺伝子をコードしていないが、メッセンジャーとして、主に遺伝子発現の制御に関与していることが最近明らかになりつつある。その結果、miRNA の発現プロファイルが細胞の中の状態を反映しており、それを調べることで、身体の中で細胞レベルで起こっている現象をモニターすることが可能である。特にがん診断においては、特定のがん腫瘍の存在が特定の miRNA によって診断可能だと考えられている。例えば小細胞肺癌であれば miR-21a が分泌される。このようにがん種と miRNA の関係が1対1であれば容易に診断応用可能であるが、実際にはあるがんになると複数の miRNA 群の発現量が上昇、もしくは減少するという複雑なパターンでプロファイルが変化する。この点が miRNA を用いた簡易診断開発の大きな課題であり、また学術的に興味深い点である。さらに、メッセンジャーとしての miRNA はエクソソームと呼ばれる細胞由来の小胞に包まれて標的部位に運ばれることが明らかになってきており、エクソソーム内 miRNA を特異的に検出できれば診断の特異性や感度の向上につながる。これまでバイオインフォマティクスなど情報工学ではデータ分析に主眼が置かれているが、最近発展が著しい分子情報工学による新規なパターン診断システムが期待されている。

## 2. 研究の目的

本研究では DNA コンピューティング技術とナノポア計測によるラベルフリー DNA 分子検出法を組み合わせることにより、早期がん診断マーカーとして期待される miRNA 群のがんパターン診断法の構築をめざす。がんに罹患すると体液中に存在する遊離 DNA/RNA のプロファイルが変化することから、体液を用いた早期がん診断（液体生検：リキッドバイオプシー）が低侵襲がん診断として期待されている。現在核酸プロファイルを調べるためにはマイクロアレイ法や定量 PCR 法が必要なため、迅速・低コスト診断には課題が残る。申請者はこれまで、DNA 分子が自律的に計算を行う DNA コンピューティングの出力分子をナノポア技術により迅速・ラベルフリーで検出するナノポアデコーディングを提案してきた。本研究では、これまで情報科学的視点から研究されてきた DNA コンピューティング技術をナノポア計測と組み合わせ、かつ miRNA 群のパターン認識に関する基礎的な知見に基づいて、迅速・簡便な体液からのがん早期診断法の構築を目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では、下記の課題を設定して研究を進めた。

### 1) DNA 並列計算のナノポアでコーディング法の構築

DNA で並列問題を解き、それをナノポアデコーディングするため、典型的な並列問題であるハミルトン経路問題のナノポアデコーディングに取り組んだ。

### 2) 胆管癌由来 5 種の miRNA のパターンを検出するシステムの構築

これまで胆管癌腫瘍の培養細胞上清には健常者と比較して 5 種の miRNA の発現上昇が報告されていた。本課題では、この 5 種類の miRNA 発現上昇のパターンを一度に検出可能な DNA コンピューティングシステムを構築し、ナノポアデコーディングを試みた。また実際の胆管癌患者の結晶サンプルからの診断にも挑戦した。

### 3) 発現上昇・減少を同時に認識する DNA 演算システム構築と口腔癌診断への応用

課題 2) で複数種の発現上昇のパターン認識が可能であったので、発現上昇・現象の異なるプロファイルパターンを同時に識別可能なシステムの構築に取り組んだ。また口腔扁平上皮癌診断への応用を試みた。

### 4) 効率的 miRNA の抽出・濃縮法の開発

実検体から miRNA 検出するには、抽出・濃縮といった前処理が必要になる。分担者の鈴木は、リボソーム内での等温増幅反応(EXPAR)を用いた小胞由来の miRNA の増幅と、複合子コアセルベート（静電相互作用による高分子の液液相分離）を用いた希薄 miRNA の濃縮法を検討した。

## 4. 研究成果

### 1) DNA 並列計算のナノポアでコーディング法の構築

本課題では、DNA コンピューティング技術を用いてハミルトン経路問題と呼ばれる組み合わせ問題を計算し、その出力情報をナノポアにより迅速・ラベルフリーにデコーディングする手法の開発を試みた。5 都市・10 経路を有するグラフから組み合わせ問題の解候補を探索するために、都市と経路の役割を担う DNA 分子をデザインし並列計算を行った。ナノポア計測の際に得られる電流阻害時間は、出力情報をコードした DNA 分子がナノポアを通過する時間を反映おり、この時間を解析することにより DNA 分子にコードされた、正解の経路が辿る都市の順番を電気信号としてデコーディングすることに成功した。

## 2) 胆管癌由来 5 種の miRNA のパターンを検出するシステムの構築

本課題では、DNA コンピューティングとナノポアデコーディングを組み合わせた手法により、胆管がんにおける miR-193、miR-106a、miR-15a、miR-374、および miR-224 という 5 つの miRNA の発現パターンを特定する方法について検討した。本研究では、胆管がんにおける miRNA の発現パターンを診断するために、特定の検査用 DNA (HP-dgDNA) を使用し、miRNA の発現パターンをナノポアで検出可能な核酸構造に変換した。HP-dgDNA と miRNA がハイブリッド化した複合構造がナノポアを通過する際に、miRNA が解離することで特徴的な振幅と時間の電流抑制が起こる。この miRNA の解離時間の解析により、臨床サンプルから胆管がん特異的な miRNA の発現パターンを識別することができた。さらに、HP-dgDNA を過剰に使用することで attomolar ( $10^{-18}$  M) レベルの miRNA パターンを検出できることも明らかにした。この手法は、がんの診断において miRNA の発現パターンを解析するために有用であり、高感度な検出が可能であることが分かった。

## 3) 発現上昇・減少を同時に認識する DNA 演算システム構築と口腔癌診断への応用

本課題では、ナノポアによる電流信号分類を用いた、過剰発現および発現減少している miRNA の同時パターン認識について検討した。これまで複数種類の miRNA の発現上昇のパターン認識には成功してきたが発現減少や、上昇と減少が同時に起こるパターンの認識は、原理的に困難であった。本研究では、上述したハミルトニアン経路問題のナノポアデコーディングの取り組みで開発した技術を基盤に、口腔扁平上皮癌の血清中の 2 種類の miRNA の過剰発現と低発現を同時に識別可能な DNA プローブの設計に成功した。ナノポア測定により、設計されたプローブはハイブリダイズした miRNA に応じて特徴的な障害電流を示し、その継続時間と障害電流を詳細に分類・分析した。分類された信号は、対象 miRNA の相対的な存在量を反映し、臨床サンプルを使用しても過剰発現および低発現 miRNA のパターン認識を成功させることができた。

## 4) 効率的 miRNA の抽出・濃縮法の開発

細胞外小胞に内封された miRNA は医学診断的な価値が高いため、その抽出操作を経ずに直接的かつ配列特異的に増幅する方法として、リポソームリアクターと小胞を直接膜融合させて内部の miRNA 起点で等温増幅反応を行う系を確立した。融合効率の面で課題は残るものの、上記の検出法が原理的に可能であることを示した。もう一つの方法として、ポリカチオン(ポリリジンなど)とアニオン(ADP など)から成る複合コアセルベート中に RNA 等の分子が超高濃縮されることを利用して、コアセルベートで濃縮した miRNA をナノポア計測により検出する方法を共同研究により試した。ポリカチオンの種類や濃度により、ノイズを減らして検出シグナルを抽出できる可能性が高い結果を得ている。

## 5) その他の成果

その他の成果として、ナノポア技術を用いた単一分子レベルでの DNA 分子のリアルタイム計数と抽出の方法について検討を行った。ナノポア技術は電気化学的な単一分子検出だけではなく、一分子レベルで分子をふるい分けることが可能であると考え、 $\lambda$ -ヘモリシン (HL) ナノポアを利用した DNA フィルタリングシステムの開発を試した。このシステムは、HL ナノポアを再構成した脂質膜で分離された二つの液滴、標的 DNA 分子が含まれている液滴と空の液滴、で構成されている。標的分子のナノポア通過は、チャネル電流計測によって観察・カウントでき、ナノポアを通過した分子の数は定量的なポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) によって検証した。一分子レベルの抽出やカウンティングを行う場合、コンタミネーションが大きな課題であり、これを解決するため実験環境の最適化、目標分子を含む溶

液の体積の削減、PCR クランプ法の使用を試みた。その結果、100 分子以下の極低濃度条件においても、電氣的にカウントした分子数と qPCR による DNA 分子数が線形関係になる条件を見出した。固体ナノポア。miRNA 検出のためのマイクロリアクターとしての均一リポソームの作製法は完成の域に達し、ナノポアタンパク質の in situ 発現と活性測定にも成功した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17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 Miyagi Mitsuki, Takiguchi Sotaro, Hakamada Kazuaki, Yohda Masafumi, Kawano Ryuji	4. 巻 22
2. 論文標題 Single polypeptide detection using a translocon EXP2 nanopore	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PROTEOMICS	6. 最初と最後の頁 2100070 ~ 2100070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pmic.202100070	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 Ushiyama Ryota, Koiwai Keiichiro, Suzuki Hiroaki	4. 巻 355
2. 論文標題 Plug-and-play microfluidic production of monodisperse giant unilamellar vesicles using droplet transfer across Water?oil interface	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 131281 ~ 131281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2021.131281	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 Shinohara Keisuke, Okita Tsutomu, Tsugane Mamiko, Kondo Takashi, Suzuki Hiroaki	4. 巻 241
2. 論文標題 Sizing of giant unilamellar vesicles using a metal mesh with a high opening ratio	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry and Physics of Lipids	6. 最初と最後の頁 105148 ~ 105148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemphyslip.2021.105148	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 Liu Ping, Kawano Ryuji	4. 巻 4
2. 論文標題 Recognition of Single Point Mutation Using a Biological Nanopore	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Small Methods	6. 最初と最後の頁 2000101 ~ 2000101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/smt.202000101	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 Shoji Kan, Kawano Ryuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Recent Advances in Liposome-Based Molecular Robots	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 788 ~ 788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11090788	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 -

1. 著者名 Chinappi Mauro, Yamaji Misa, Kawano Ryuji, Cecconi Fabio	4. 巻 14
2. 論文標題 Analytical Model for Particle Capture in Nanopores Elucidates Competition among Electrophoresis, Electroosmosis, and Dielectrophoresis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 15816 ~ 15828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.0c06981	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 Tsugane Mamiko, Suzuki Hiroaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Elucidating the Membrane Dynamics and Encapsulation Mechanism of Large DNA Molecules Under Molecular Crowding Conditions Using Giant Unilamellar Vesicles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 2819 ~ 2827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.0c00360	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 Koseki Kaoru, Suzuki Hiroaki	4. 巻 36
2. 論文標題 Deformation Dynamics of Giant Unilamellar Vesicles in the Large Surface-to-Volume Ratio Regime: The Emergence of Neuron-like Morphology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 6238 ~ 6244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c00872	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 Takeuchi Nanami, Izumi Kayano, Shoji Kan, Kawano Ryuji	4. 巻 44
2. 論文標題 A System on Artificial Cell Membrane: from Information Science to Biomedical Applications	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 MEMBRANE	6. 最初と最後の頁 239 ~ 246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.44.239	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 Shoji Kan, Kawano Ryuji	4. 巻 19
2. 論文標題 Osmotic-engine-driven liposomes in microfluidic channels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 3472 ~ 3480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9LC00788A	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 Matsushita Masaki, Shoji Kan, Takai Natsumi, Kawano Ryuji	4. 巻 124
2. 論文標題 Biological Nanopore Probe: Probing of Viscous Solutions in a Confined Nanospace	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 2410 ~ 2416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.9b11096	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 Nanami Takeuchi, Moe Hiratani, Asuka Tada, and Ryuji Kawano	4. 巻 1
2. 論文標題 NANOPORE DECODING FOR MICRORNA PATTERN OF CANCER WITH DNA COMPUTATION	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS	6. 最初と最後の頁 186-187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ping Liu, Keisuke Shimizu, and Ryuji Kawano	4. 巻 1
2. 論文標題 SPECIFIC DETECTION OF POINT-MUTATION-POSITION USING BIOLOGICAL NANOPORE	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS	6. 最初と最後の頁 1692-1693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Takiguchi Sotaro, Kawano Ryuji	4. 巻 13
2. 論文標題 Nanopore decoding for a Hamiltonian path problem	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 6192 ~ 6200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0NR09031J	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 Takeuchi Nanami, Hiratani Moe, Kawano Ryuji	4. 巻 2
2. 論文標題 Pattern Recognition of microRNA Expression in Body Fluids Using Nanopore Decoding at Subfemtomolar Concentrations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JACS Au	6. 最初と最後の頁 1829 ~ 1838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacsau.2c00117	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 -

1. 著者名 Asuka Tada, Nanami Takeuchi, Kan Shoji, Ryuji Kawano	4. 巻 in press
2. 論文標題 Nanopore Filter: A Method for Counting and Extracting Single DNA Molecules using a Biological Nanopore	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.3c00573	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 Takiguchi Sotaro, Kawano Ryuji	4. 巻 1
2. 論文標題 MicroRNA Detection at Femtomolar Concentrations with Isothermal Amplification and a Biological Nanopore	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 67 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2982-6_5	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 14件)

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 分析化学へアプローチする人工細胞膜研究
3. 学会等名 生物工学フォーラム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nanami Takeuchi and Ryuji Kawano
2. 発表標題 Femtomolar MicroRNA Detection by Diagnostic DNA System and Biological Nanopore
3. 学会等名 MicroTAS2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Suzuki, R. Ushiyama, K. Koiwai,
2. 発表標題 A plug-and-play microfluidic device for efficient generation of monodisperse giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 20th IUPAB Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K. Shinohara, T. Okita, M. Tsugane, T. Kondo, H. Suzuki
2. 発表標題 Monodispersion of Giant Unilamellar Vesicles Using a Metal Mesh Filter
3. 学会等名 MicroTAS2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 R. Ushiyama, T. Matsuura, K. Koiwai, H. Suzuki
2. 発表標題 Production of monodisperse giant unilamellar vesicles using a microfluidic channel
3. 学会等名 Pacifichem (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K. Shinohara, T. Okita, M. Tsugane, H. Suzuki
2. 発表標題 Size purification of giant unilamellar vesicles using the mesh filter with the high opening ratio
3. 学会等名 Pacifichem (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuji Kawano
2. 発表標題 Nanopore decoding for DNA computing (Keynote lecture)
3. 学会等名 Nanopore Electrochemistry Meeting (Online) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryuji Kawano
2. 発表標題 Analysis of transmembrane peptides using a lipid bilayer system
3. 学会等名 第58回 生物物理学会年会 (Online) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 ボトムアップ配列設計ペプチドによるナノポアの構築
3. 学会等名 第72回 日本生物工学会大会 (Online) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nanami Takeuchi, Moe Hiratani, Asuka Tada, and Ryuji Kawano
2. 発表標題 Nanopore decoding for microRNA pattern of cancer with DNA computation
3. 学会等名 The 23th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (uTAS 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ping Liu, Keisuke Shimizu, and Ryuji Kawano
2. 発表標題 Specific detection of point-mutation-position using biological nanopore
3. 学会等名 The 23th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (uTAS 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Ryuji Kawano
2 . 発表標題 Construction of Artificial Cell-Membrane System Using Microfluidics
3 . 学会等名 Microfluidics & Organ-on-a-Chip Asia 2019 (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 S. Katsuta T. Okano, H. Suzuki
2 . 発表標題 Ejection of large particulate materials from giant unilamellar vesicles
3 . 学会等名 The 23th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (uTAS 2019) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 H. Suzuki
2 . 発表標題 Giant Liposome-based Dynamic Bioreactor
3 . 学会等名 Okinawa Colloids 2019 (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 SotaroTakiguchi, Ryuji Kawano
2 . 発表標題 Nanopore decoding for DNA-computed over and under-expression of microRNA patterns
3 . 学会等名 DNA28 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 分子演算システムによる複数miRNAのパターン認識
3. 学会等名 第42回キャピラリー電気泳動シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 ヘモリシントーク：ヘモリシンマニア2人が語る ナノポア形成タンパク質「ヘモリシン」
3. 学会等名 第6回分子ロボティクス年次大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nanami Tankeuchi
2. 発表標題 Pattern Recognition of microRNA Expression in Body Fluids Using Nanopore Decoding at Subfemtomolar
3. 学会等名 Nanopore Weekly Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 ナノポアキッドバイオプシー：血中由来短鎖核酸の一分子計測
3. 学会等名 第7回 Liquid Biopsy 研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川野竜司
2. 発表標題 バイオナノポアを用いた核酸・ペプチド断片の単分子計測
3. 学会等名 ATIバイオ単分子研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Misa Yamaji, Ryuji Kawano
2. 発表標題 Facilitating the Nanopore Detection of Protein Fragments with a Neutral Charge
3. 学会等名 The Biophysical Society Annual Meeting 2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 Hiroki Yasuga, Kan Shoji, Ryuji Kawano	4. 発行年 2021年
2. 出版社 WILEY VCH GmbH	5. 総ページ数 392
3. 書名 DNA and RNA Based Computing Systems	

1. 著者名 Hiroki Yasuga, Kan Shoji, Keiichiro Koiwai, Ryuji Kawano	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 -
3. 書名 Reference Module in Biomedical Sciences	

1. 著者名 竹内七海、劉媧、滝口創太郎、林貢平、川野竜司	4. 発行年 2022年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 276
3. 書名 疾患バイオマーカーとしてのマイクロRNAと診断応用（分担執筆「ナノポアテクノロジーによるmiRNAおよびエクソソームの検出」）	

1. 著者名 滝口創太郎、川野竜司共同執筆	4. 発行年 2022年
2. 出版社 高分子学会	5. 総ページ数 542
3. 書名 会誌「高分子」（Vol.71, No.10）（分担執筆「ナノポア計測によるDNA演算情報の復号化」）	

1. 著者名 滝口創太郎、竹内七海、川野竜司	4. 発行年 2022年
2. 出版社 有機分子・バイオエレクトロニクス分科会	5. 総ページ数 270
3. 書名 応用物理学会M&BE分科会（Vol. 33, No. 4）誌（分担執筆「生体ナノポアを用いた核酸検出とDNA演算技術との融合による診断応用」）	

1. 著者名 Tamas Dalmay	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 266
3. 書名 MicroRNA Detection and Target Identification Methods and Protocols (Part of the 「Methods in Molecular Biology」)	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 W/O/W液滴の製造方法，W/O/W液滴の製造装置及びW/O/W液滴	発明者 鈴木宏明，牛山諒太	権利者 学校法人 中央 大学
産業財産権の種類、番号 特許、特開2022-169218	出願年 2021年	国内・外国の別 国内



産業財産権の名称 極低濃度のオリゴヌクレオチドの存在の有無を判定する方法、及び検査対象が特定疾患に罹患しているかどうか又は特定疾患罹患のリスクを有するかどうかを判定する方法	発明者 川野竜司、竹内七海	権利者 国立大学法人 東京農工大学
産業財産権の種類、番号 特許、特開2022-036733	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>東京農工大学 川野研究室  <a href="http://web.tuat.ac.jp/~rjkawano/index.html">http://web.tuat.ac.jp/~rjkawano/index.html</a>  2022. 6. 27  竹内さん、平谷さんのナノボアとDNAコンピューティングを利用した、超低濃度・胆管がんmicroRNA発現パターン診断に関する研究成果がAAASのEurekAlert!に掲載されました。  2022. 8. 30  竹内さんと平谷さんの論文がACS Insights日本語版で注目のオープンアクセス論文に選ばれました。  2023. 3. 1  劉さんが「東京農工大学アントレプレナーチャレンジ ピッチコンテスト」にて学長賞を受賞し、優勝賞品として仮説検証推進経費：100万円が授与されました。</p>
---

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
研究分担者	鈴木 宏明  (Suzuki Hiroaki)  (20372427)	中央大学・理工学部・教授    (32641)	

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			
イタリア	University of Rome Tor Vergata			
米国	University of Cincinnati			
オランダ	Radboud University			