

令和元年6月10日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26289035

研究課題名(和文) マイクロ・ナノ電気穿孔法による細胞核への分子導入法の開発

研究課題名(英文) Micro and nano electroporation for direct delivery of molecules to cell nucleus

研究代表者

新宅 博文 (Shintaku, Hirofumi)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・理研白眉研究チームリーダー

研究者番号：80448050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：開発したマイクロ流体システムが非常に高い再現性(およそ97%, $n>120$)で1細胞の配置および電気穿孔を実施できることを示した。流体トラップ構造は細胞の捕獲に加えて電流経路の限定により局所的に電場を集中できるため、結果的に一様電場を用いる場合と比較して印可電圧を1/10程度にまで低減できた。流体トラップの隙間と核膜に与えられる電場強度について系統的に解析を行い、それらを関係付ける近似式を開発した。さらに、開発したマイクロ流体システムを応用して1細胞の細胞質RNAと核RNAを独立かつ並列で解析するSINC-seq法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したマイクロ流体システムは集中電場を活用して選択的に細胞膜を穿孔し、細胞内外の物質輸送を制御することを実現した。これを活用して、再現性の高い電気穿孔法を確立した。さらに、世界で初めて1細胞の細胞質RNAと核RNAを独立かつ並列でシーケンス解析するSINC-seq法(1細胞RNA分画解読法)を確立した。

研究成果の概要(英文)：We developed a microfluidic system that offered a highly reproducible single-cell isolation and electroporation (97%, $n>120$). We showed that the hydrodynamic trap effectively captured a single cell and focused the electric field for electroporation to reduce the applied voltage by ten-fold in comparison to a uniform electric field. We also developed an equation that estimated the magnitude of the electric field exerted on the nuclear membrane as a function of the distance between the hydrodynamic trap and the nuclear membrane. Furthermore, we applied our microfluidic system for integrated nuclear and cytoplasmic RNA-sequencing of single cells and coined the method SINC-seq.

研究分野：マイクロ流体工学

キーワード：RNA DNA 電気泳動 マイクロ流体システム シーケンシング 1細胞 電気穿孔

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

電気穿孔法とは、細胞に対して電場を印可することで、細胞膜に可逆的な穿孔を空け、非膜透過性の外来分子(特にプラスミド等の遺伝子)を細胞内部に導入する技術である。従来のバルク電気穿孔法では、細胞懸濁液に対して一様電場を印可して実施する。そのため、穿孔を決定づける細胞膜の膜電位が、細胞の大きさあるいは電場と細胞の方位関係に依存する。また、電気穿孔法は化学的手法やウィルスベクターを用いた方法と比較して一般に遺伝子の導入効率が低い。一方、細胞よりも微細なオリフィス(孔)構造を用いるナノ・マイクロ電気穿孔法(Hakamada, Shintaku et al. J Biosci Bioeng 2013)が近年注目を集めている。本方法では絶縁体中に形成したオリフィス部に細胞を固定し、オリフィスを介してパルス電圧を印可する。このとき、細胞とオリフィスの電気的接合が完全である場合、印可電圧と膜電位の上昇が一致し、膜電位は細胞の大きさ、あるいはその方位に依存しない。結果として、従来の電気穿孔法と比較して物質導入効率が高いとの報告(Kurosawa et al. Measure Sci Technol 2006, Valero Lab Chip 2008)がある。また、近年ではオリフィスの大きさをナノスケールにまで減少させると(ナノ電気穿孔法)、分子の電気泳動を利用した高精度の物質導入を行えるという興味深い報告もある(Boukany Nat Nanotech 2011)。さらに、マイクロスケールのオリフィスを用いた場合において、電気穿孔から遺伝子発現までの時間が通常よりも短いことから、遺伝子が電気泳動により核へ直接導入されている可能性も示唆されており(Kurosawa, Proc Micro TAS 2009)、従来方法で実現できない特徴的な遺伝子導入法の確立が期待される。

しかし、実用上重要であるプラスミド等比較的大きな生体高分子の輸送ダイナミクスについて、可視化により直接評価した研究例はほとんどなく、マイクロ・ナノ電気穿孔におけるその詳細流動については未だ不明な点が多い。比較的大きな生体高分子は蛍光物質等と本質的に異なり、電気泳動により細胞内部へ導入されないことがバルク電気穿孔法において報告されている(例えば Escoffre et al. Mol Biotechnol 2009)。このことと先行研究の報告から、オリフィスの形成する集中電場を利導することにより初めて電気泳動を利用した遺伝子導入が可能になると考えられる。しかし我々の知る限り、本可能性を裏付ける流動現象そのものを捉えた報告例は無い。そこで本研究では、我々が開発してきたマイクロ・ナノスケールの流動可視化技術を応用し、マイクロ・ナノ電気穿孔法における生体高分子輸送現象の詳細を明らかにすると共に、積極的に核への直接的遺伝子導入を可能にする電気穿孔法を開発する。

2. 研究の目的

本研究は細胞のマイクロ・ナノ電気穿孔法における生体高分子流動ダイナミクスを詳細に解析し、核への直接的遺伝子導入を可能にする新しい電気穿孔法の構築を目的としている。ここで対象とするマイクロ・ナノ電気穿孔法は、細胞よりも小さなオリフィス構造を利用して細胞の固定および細胞への集中電場の印可を行うものである。予備検討によりオリフィスの作り出す集中電場が細胞膜のみならず核膜の膜電位上昇を引き起こし、核膜の分子透過性を上昇させる可能性がわかってきた。本研究では、本仮説を確固たるものにし、オリフィス構造の最適化により、核への直接的遺伝子導入が実用レベルで実施可能な高効率遺伝子導入法を確立する。

3. 研究の方法

マイクロ流体システムの開発

T字型ジャンクションを有するマイクロ流路に細胞の直径よりも小さな隙間を有する流体トラップ構造を設置したシステムを設計した。このシステムは左右の流路から中央の流路端に向けて流れる圧力駆動流を活用してマイクロ流路内部に細胞を導入するとともに、左右のマイクロ流路を異なる溶液で満たすことができる。細胞をマイクロ流路へ導入した後、流路端のウェルにおける溶液量の調整により圧力駆動流を止め、その後はウェルに挿入した電極を介した電場制御により細胞の処理を進める。

本マイクロ流路はSU-8のフォトリソグラフィとpolydimethylsiloxaneによる転写を使ったフォトリソグラフィで作製した。ただし、流体トラップ構造の隙間は3 μm を仕上げり寸法とし、フォトリソグラフィ用のマスクは2.5 μm とした。また、SU-8のパターニングでしばしば問題になるプリントギャップに起因したパターン精度の低下を回避するために、コピーフォトマスク上にSU-8の構造を製作する方法を採用した。この方法を活用することでプリントギャップを0にし、高いパターン精度を達成した。

細胞膜の電気穿孔と物質輸送に関する数値モデル開発

外部電場を印加した際に生じる膜電位の上昇およびそれに伴う物質透過性の上昇、それに引き続く物質輸送に関して数値モデルの開発に取り組んだ。まず、手始めとして細胞膜および核膜共にパッシブな膜とし(すなわち、物質透過性は変化しない)、膜電位の上昇に関して解析解を得た。次に、境界要素法および有限要素法それぞれを使って数値解析モデルを開発し、解析解との比較から数値解析モデルの計算精度を検証した。次に asymptotic Smoluchowski 式に基づくアクティブな膜モデルを導入し、集中電場下における膜電位の上昇と分子透過性について解析した。一方、物質輸送に関しては、電気穿孔が生じる時間スケール(およそ数 μs)と物質輸送の時間スケール(数 ms)に乖離があることを利用して電気穿孔の解析から得られる分子透過性を境界条件として用いたNernst-Planck方程式により解析した。

SINC-seq(single cell integrated nuclear and cytoplasmic RNA sequencing)法への応用

本研究課題を進める中で、開発したマイクロ流体システムを用いてパルス電場の代わりに数十秒間の直流電場を加えることで、細胞膜の選択的破碎と細胞質成分の高効率抽出が可能であることが分かった。この発見を活用して、1細胞の細胞質と核を高精度に分画する方法を確立した。さらに、1細胞の細胞質と核を別々に回収し、それぞれに含まれるRNA分子を次世代シーケンシングにより解析するSINC-seq法を確立した。SINC-seq法の有用性を示すためにK562細胞を用いて実験を実施し、多数の細胞質RNA-seqおよび核RNA-seqデータを取得した。また、これらのデータから細胞質-核間におけるRNA発現について詳細に解析を行った。

4. 研究成果

マイクロ流体システムの開発

開発したマイクロ流体システムが非常に高い再現性(およそ97%, n>120)で1細胞の配置および電気穿孔が実施できることを示した。流体トラップ構造は細胞の捕獲に加えて電流経路の限定により局所的に電場を集中できるため、結果的に一様電場を用いる場合と比較して印可電圧を1/10程度にまで低減できた。細胞を導入するウェルの構造として逆円錐型の構造を検討したが、細胞の接着や加工精度に課題が残った。本研究期間では主に原理検証の部分に焦点を絞り、自動化等に関する検討は将来の課題とした。

細胞膜の電気穿孔と物質輸送に関する数理モデル開発

流体トラップの隙間と核膜に与えられる電場強度について系統的に解析を行い、それらに関係付ける近似式を開発した。近似式の妥当性を数値解析結果と比較することで検証し、その近似式で精度良く電場強度を算出できる範囲を明らかにした。具体的には、隙間が細胞膜と核膜の距離と比較して小さい場合に近似式は精度良く電場強度を予測できるのに対して、隙間が前述の距離と同程度あるいは大きくなると予測精度が低下することがわかった。ただし、本研究が対象としているマイクロ・ナノ電気穿孔は流体トラップの隙間が十分に小さいという条件を通常満たすため、近似式は本研究の対象範囲において有用であると結論づけた。

SINC-seq(single cell integrated nuclear and cytoplasmic RNA sequencing)法への応用

数値解析および可視化実験から、物質導入の場合と異なり、直流電場の印加時に細胞内部で生じる輸送現象は電気泳動支配であると分かった。このことは例えばRNAの網羅解析等においては好都合であり、抽出効率におけるRNA分子の長さに依存したバイアスを生じにくいなど優れた特徴を与えることが明らかになった(under review)。

細胞質RNA-seqと核RNA-seqのデータから、細胞周期関連遺伝子は細胞質と核間で正の相関性を示す一方で、RNA splicingやメタボリズムに関連する遺伝子は負の相関を示すことが分かった。また、K562細胞を脱アセチル化阻害剤であるNaB(sodium butyrate)を含む環境で培養し、細胞のエピゲノム状態に与えた摂動が核-細胞質RNAの発現ダイナミクスへ伝搬する様子をSINC-seq法により詳細に調べた。これらの成果をGenome Biology誌に報告した(Genome Biol 2018)。さらに、開発したSINC-seq法の応用展開として可逆的な細胞固定法との融合やsmall RNAシーケンシングへの適用について検討し、それらの成果を国際誌(Anal Chem 2018a, Anal Chem 2018b)において報告した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9件)

1. Sangamithirai Subramanian Parimalam, Yusuke Oguchi, Mahmoud N. Abdelmoez, Arata Tsuchida, Yuka Ozaki, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, and Hirofumi Shintaku, Electrical Lysis and RNA Extraction from Single Cells Fixed by Dithio-bis(succinimidyl propionate), *Analytical Chemistry*, Vol. 90, No. 21 (2018), pp.12512-12518. 査読あり
2. Ruba Khnouf, * Sabrina Shore, * Crystal M. Han, Jordana M. Henderson, Sarah A. Munro, Anton P. McCaffrey, Hirofumi Shintaku, † and Juan G. Santiago, † Efficient Production of On-target Reads for Small RNA Sequencing of Single Cells Using Modified Adapters, *Analytical Chemistry*, Vol. 90, No. 21 (2018), pp.12609-12615. [*: Equal contributors, †: Corresponding authors] 査読あり
3. Mahmoud N. Abdelmoez, * Kei Iida, * Yusuke Oguchi, * Hidekazu Nishikii, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, Sotaro Uemura, Juan G. Santiago, and Hirofumi Shintaku, SINC-seq: Correlation of Transient Gene Expressions between Nucleus and Cytoplasm Reflects Single-Cell Physiology, *Genome Biology*, Vol.19 (2018), 66. [*: Equal contributors] 査読あり
4. Kentaro Kuriyama, * Hirofumi Shintaku, * and Juan G. Santiago, Protocol for Microfluidic System to Automate the Preparation and Fractionation of the Nucleic Acids in the Cytoplasm versus Nuclei of Single Cells, *Bio-protocol*, Vol. 6, Issue 12, (2016), e1844. [*: Equal contributors] 査読あり
5. Kentaro Kuriyama, * Hirofumi Shintaku, * and Juan G. Santiago, Isotachopheresis for Fractionation and Recovery of Cytoplasmic RNA and Nucleus from Single Cells,

Electrophoresis, Vol. 36, Issue 14(2015) pp. 1658-1662. [*: Equal contributors] 査読あり

6. Itsuo Hanasaki, Naoya Yukimoto, Satoshi Uehara, Hirofumi Shintaku, and Satoyuki Kawano, Linearization of Lambda DNA Molecules by Instantaneous Variation of the Trapping Electrode Voltage inside a Micro-channel, *Journal of Physics D: Applied Physics* Vol.48, No.13 (2015) 135402 (11 pages). 査読あり
7. Hirofumi Shintaku, James W. Palko, Glenn M. Sanders, and Juan G. Santiago, Increasing Hybridization Rate and Sensitivity of Bead Based Assays Using Isotachopheresis, *Angewandte Chemie International Edition*, Vol. 53 (2014), pp. 13813-13816. 査読あり
8. Hirofumi Shintaku, Hidekazu Nishikii, Lewis A. Marshall, Hidetoshi Kotera, and Juan G. Santiago, On-Chip Separation and Analysis of RNA and DNA from Single Cells, *Analytical Chemistry*, Vol. 86, No. 4 (2014), pp 1953-1957. 査読あり
9. Hirofumi Shintaku, Kazumi Hakamada, Hiroshi Fujimoto, Takeshi Nagata, Jun Miyake, and Satoyuki Kawano, Measurement of Local Electric Field in Microdevices for Low-Voltage Electroporation of Adherent Cells, *Microsystem Technologies*, Vol. 20, Issue 2 (2014), pp. 303-313. 査読あり

[学会発表](計 27件)

1. *Hirofumi Shintaku, Dissecting correlation between cytoplasmic and nuclear gene expressions of single cells by microfluidic fractionation, the EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine Conference, Kauai, USA, Dec 11, 2018.
2. *Hirofumi Shintaku, RNA Extraction from Single Cells Using Electrical Lysis and Electrophoresis, International Conference on Complex Fluids and Soft Matter, Roorkee, India, Dec 7, 2018.
3. Mahmoud N. Abdelmoez, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, Hirofumi Shintaku, RNA extraction from single cells via focused electric field at a hydrodynamic trap in a microfluidic channel, the EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine Conference, Koloa, HI, USA, 10th - 11th, December (2018).
4. Sangamithirai Subramanian Parimalam, Yusuke Oguchi, Mahmoud N. Abdelmoez, Arata Tsuchida, Yuka Ozaki, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, Hirofumi Shintaku, Isotachopheresis-based RNA extraction from fixed single cells, 日本機械学会第9回マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, 30am3PN37, 札幌市, 2018年10月30日-11月1日.
5. Mahmoud N. Abdelmoez, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, and Hirofumi Shintaku, Numerical analyses on single-cell electroporation and RNA extraction under focused electric field, 日本機械学会 2018年度年次大会, J0530202, 吹田市, 2018年9月10日.
6. L. Dick Keys, Sabrina Shore, Ruba Khnouf, Crystal M. Han, Jordana M. Henderson, Richard I. Hogrefe, Anton P. McCaffrey, Sarah A. Munro, Hirofumi Shintaku, Juan G. Santiago, Single-Cell Small RNA-Seq by Microfluidic Chip Isotachopheresis with sRNA Library preparation using Chemically Modified Adapters, Next Generation Dx Summit, Washington D.C., USA, 20th -24th, August (2018).
7. *新宅博文, 一細胞核内核酸と細胞質核酸の並列シーケンス解析, 生命科学系学会合同年次大会, 神戸市, 2017年12月7日.
8. Sabrina Shore, Ruba Khnouf, Crystal M. Han, Jordana M. Henderson, Richard I. Hogrefe, Anton P. McCaffrey, Sarah A. Munro, Hirofumi Shintaku, Juan G. Santiago, Electrokinetic microfluidic chip and chemically modified adapters streamline single cell next-generation sequencing of small non-coding RNA. Poster presented at: RNA-Seq, Single Cell Analysis & Single Molecule Analysis 2017, Coronado Island, CA, USA, 5th-6th, October (2017).
9. 土田新, 畑翔太, 横川隆司, 小寺秀俊, 新宅博文, 一細胞 RNA 網羅解析に向けた ribosomal RNA 除去法の開発, 日本機械学会 2017年度年次大会, J0530202, さいたま, 2017年9月3日.
10. *Hirofumi Shintaku, Electrical fractionation of cytoplasmic and nuclear nucleic acids of single cells, Fundamentals and Applications of Microfluidic Compartmentalization, Kunigami-gun, Japan, June 13th -16th (2017).
11. Mahmoud Nady Abdel-Moez Atta, Kei Iida, Yusuke Oguchi, Sotaro Uemura, Juan G. Santiago, and Hirofumi Shintaku, On-chip Electric Fractionation of Cellular Components for Sequencing at Subcellular Resolution, 2017 Microfluidics, Physics and Chemistry of GRC, Lucca, Italy, 4th-9th, June (2017).
12. *Hirofumi Shintaku, A microfluidic system for integrated analyses on nuclear and cytoplasmic nucleic acids of single cells, The 12th Annual IEEE International

- Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, IEEE-NEMS 2017, Los Angeles, CA, USA, April 11th (2017).
13. Mahmoud Nady Abdel-Moez Atta, Kei Iida, Yusuke Oguchi, Sotaro Uemura, Juan G. Santiago, and Hirofumi Shintaku, Integrated nuclear and cytoplasmic RNA sequencing of single cells, Advances in Genome Biology and Technology (AGBT) General Meeting, Hollywood, FL, USA, 13th-16th, February (2017).
 14. *Hirofumi Shintaku, Electrical Fractionation of Cytoplasmic RNA And Nucleus From Single Cells For Parallel RNA and DNA Analyses, 2nd Annual Next Generation Sequencing & Single Cell Analysis USA Congress, Boston, MA, USA October 4th (2016).
 15. 畑 翔太, Mahmoud Nady Abdel-Moez Atta, 横川 隆司, 小寺 秀俊, 新宅 博文, 等速電気泳動を用いた一細胞スケール RNA 抽出における効率の評価, 日本機械学会 2016 年度年次大会, J0540301, 福岡, 2016 年 9 月 14 日.
 16. 新宅 博文, 藁谷卓哉, 小口祐伴, 上村想太郎, マイクロオリフィスを用いた一細胞 RNA および DNA 同時前処理法, 日本機械学会 2016 年度年次大会, J0540302, 福岡, 2016 年 9 月 13 日.
 17. Sangamithirai Subramanian Parimalam, Ruji Yokokawa, Hidetoshi Kotera and Hirofumi Shintaku, Massively parallel quantification of miRNA in single cells via duplex-specific nuclease reaction in pico-liter wells, 2016 International conference of Microfluidics, Nanofluidics, and Lab-on-a-chip, Dalian, China, 10th June (2016), pp.287-288(Track13-292).
 18. *Hirofumi Shintaku, Kentaro Kuriyama, and Juan G. Santiago, On-Chip Electrical Lysis and Extraction of Cytoplasmic RNA and Genomic DNA from Single Cells, 28th International Microprocesses and Nanotechnology Conference, Toyama, Japan, 12th November (2015), 12A-5-2.
 19. 畑 翔太, 横川 隆司, 小寺 秀俊, 新宅 博文, 電気穿孔および等速電気泳動を用いた一細胞前処理技術における RNA 純度計測, 日本機械学会 2015 年度年次大会, J0540101, 札幌, 2015 年 9 月 14 日.
 20. Hirofumi Shintaku and Juan G. Santiago, On-Chip Preparation System for Simultaneous Cytoplasmic RNA and Genomic DNA Analyses of Single Cells, the 3rd Annual Single Cell Analysis Investigators Meeting, Bethesda, MD, USA, 20th-21st April (2015)
 21. *Hirofumi Shintaku and Juan G. Santiago, Extraction and Fractionation of RNA and DNA from Single Cells Using Selective Lysing and Isotachopheresis, SPIE Photonics West BIOS, Proc. of SPIE Vol. 9320, San Francisco, CA, USA, 7th-12th February (2015), 93200Q.
 22. *Hirofumi Shintaku, Kentaro Kuriyama, and Juan G. Santiago, "Microfluidic System for Correlation Analyses of RNA and DNA in Single Cells," Cold Spring Harbor Asia Conferences, Single Cell, Suzhou, China, December 8th-12th (2014).
 23. *Hirofumi Shintaku, James W. Palko, Glenn M. Sanders, and Juan G. Santiago, "Coupling Isotachopheresis with Bead-Based Assay for Rapid and Multiplexed Nucleic Acids Detection," Lab-on-a-Chip Asia - Microfluidics and Point Of Care Diagnostics, Singapore, November 20th-21st (2014).
 24. 岡 洗佑, 横川 隆司, 小寺 秀俊, 新宅 博文, 基板上に固定した液滴アレイの電氣的結合と分裂, 日本機械学会第 6 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, 20pm3-PM018, 松江, 2014 年 10 月 20 日.
 25. Kentaro Kuriyama, Hirofumi Shintaku, and Juan G. Santiago, Development of Microfluidic System for Isolation and Analyses of RNA and DNA from Single Cells, 2nd Annual Single Cell Genomics & Transcriptomics Asia Congress 2014, Singapore, 7th-8th October (2014).
 26. *Hirofumi Shintaku, "Sample Preparation for Simultaneous Analysis of RNA and DNA from Single Cells Using Electrophoretic Techniques," 2nd Annual Single Cell Genomics & Transcriptomics Asia Congress 2014, Singapore, October 7th-8th (2014).
 27. *Hirofumi Shintaku, Kentaro Kuriyama, Hidekazu Nishikii, Lewis A. Marshall, Hidetoshi Kotera, and Juan G. Santiago, "Correlating DNA and RNA Amounts in Single Cells Using Selective Lysing and Isotachopheresis," SCIX 2014, p.227, Reno, NV, USA, October 1st (2014).

*は招待講演を表す.

[図書](計 2 件)

1. 新宅博文, 1 細胞解析とマイクロフルイディックスの今後, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 会誌, Vol. 18, No.1 (2019), pp.9-10. (2019 年 3 月 31 日)
2. 小口祐伴, マハムード ナディ アブデルモエズ, 新宅博文, SINC-seq: 1 細胞の核 RNA と細胞質 RNA の定量相関解析, 生物物理, Vol.59, No.2, (2019), pp.88-90.

〔産業財産権〕

取得状況（計 1 件）

名称：核酸分離用チップ、それを用いた核酸分離方法、および核酸分析方法

発明者：新宅博文，藁谷卓哉，上村想太郎，小口祐伴

権利者：京都大学

種類：特許

番号：特許第 6338262 号

取得年：2018 年

国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等

<https://hshintaku.com>

セミナー等

1. Hirofumi Shintaku, Stringent fractionation of cytoplasmic versus nuclear components in single cells via electric field, Tohoku University, Feb 25, 2019.
2. 新宅博文, SINC-seq:1 細胞の核と細胞質の RNA 発現相関解析, 奈良県立医科大学, 橿原市, 2018 年 11 月 19 日.
3. 新宅博文, SINC-seq: 電場を用いた一細胞分画 RNA-sequencing 法, 新化学技術推進協会 電子情報技術 マイクロナノシステムと材料・加工分科会, 和光市, 2018 年 11 月 8 日.
4. Hirofumi Shintaku, SINC-seq: Dissecting nuclear and cytoplasmic RNA expressions in single cells, IMS Seminar, Yokohama, Japan, Oct 12th, 2018.
5. 新宅博文, マイクロ界面動電現象を用いた 1 細胞 RNA 分画解読法, 第 3 回 ImPACT-システム技術交流会, 東京都, 2018 年 8 月 20 日.
6. 新宅博文, マイクロ界面動電現象を用いた 1 細胞解析, 理研セミナー, 和光市, 2018 年 8 月 1 日.
7. 新宅博文, マイクロ流路における電場誘起流れを用いた核酸操作と 1 細胞解析, バイオナノミクス基盤技術研究会, 京都市, 2018 年 7 月 4 日.
8. Hirofumi Shintaku, A microfluidic tool for single-cell integrated nuclear and cytoplasmic RNA-seq, Interdisciplinary Seminar, Wako, Japan, April 18th (2018).
9. Hirofumi Shintaku, A microfluidic tool for single-cell integrated nuclear and cytoplasmic RNA-seq, QBIC Seminar, Suita, Japan, January 9th (2018)
10. Hirofumi Shintaku, "Microfluidic System for Simultaneous Analyses of RNA and DNA in Single Cells," Berkeley Nanosciences and Nanoengineering Institute Seminar, Berkeley, CA, USA, February 27th (2015).

6 . 研究組織

(1)研究分担者 (H26-H29)

研究分担者氏名：小寺秀俊

ローマ字氏名：Hidetoshi Kotera

所属研究機関名：京都大学大学院

部局名：工学研究科

職名：教授

研究者番号（8 桁）：20252471

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。