

令和 3 年 4 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19839

研究課題名（和文）高速大規模な画像情報の取得を特徴としたゲノムプロファイリングシステムの開発と応用

研究課題名（英文）Development and application of genome profiling system featuring high-speed and large image processing

研究代表者

保川 清（Yasukawa, Kiyoshi）

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：30397559

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：ゲノムプロファイリング（GP）法はゲノムの一部の遺伝子断片群をランダムPCRにより増幅し、増幅産物を温度勾配ゲル電気泳動（TGGE）にかけ、泳動パターンを得て、コントロールと比較することにより、配列関連情報をシーケンシングせずに取得する方法である。本研究では、複数のTGGEを同時に行えるMultiple TGGEを開発した。また、TGGEの泳動パターンを追跡するソフトを開発し、変曲点を検出できるようにした。さらに、等温増幅法であるリコンビナーゼポリメラーゼ増幅法を用いて目的のDNA断片を増幅させる技術を構築した。そして、TGGEの泳動パターンの違いにより、DNA断片中の1塩基の変異を検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種々の細胞、組織、個体、あるいは腸内や土壌などの微生物群集に対し、特定の遺伝子群に導入された変異を定量的に検出したり、これらを種々の環境下に置いた時にそのゲノムがどう変動するか、どの遺伝子が発現するかを高精度かつ迅速に計測したりすることは、生物学、農学、医学において基盤的に重要である。本研究では、従来マニュアル操作であったGP法をハードウェアとソフトウェアの両面から改良した。その結果、画像情報を高速に取得し、GP法を変異原性解析等の各種用途への応用や、GP法の画像情報とDNA配列情報を関連つけたデータベースの構築につなげる道を切り開いた。

研究成果の概要（英文）：Genome profiling (GP) method is a method consisting of amplification of a set of gene fragments by random PCR, application of the amplified DNA to temperature gradient gel electrophoresis (TGGE), and analyzing the TGGE pattern. GP method enables the rapid acquisition of sequence information without sequencing. In order to increase the throughput of micro-TGGE analysis of DNA, we developed a new system in which five samples can be run simultaneously in a single gel which consists of 5 sample-loading lanes arranged in a design of 3 columns and 2 rows. We also developed a software that can trace a TGGE pattern and identify a feature point. In addition, we developed basic technologies with which a target DNA fragment can be amplified by an isothermal amplification method "recombinase polymerase amplification" and identified one base mutation in the DNA according to the difference in TGGE pattern.

研究分野：酵素化学

キーワード：ゲノムプロファイリング PCR リコンビナーゼポリメラーゼ増幅法 RPA 温度勾配ゲル電気泳動 画像処理 変曲点 データベース

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

種々の細胞、組織、個体、あるいは腸内や土壌などの微生物群集に対し、特定の遺伝子群に導入された変異を定量的に検出したり、これらを種々の環境下に置いた時にそのゲノムがどう変動するか、どの遺伝子が発現するかを高精度かつ迅速に計測したりすることは、生物学、農学、医学において基盤的に重要である。実際、癌をはじめ多くの疾患が遺伝子の変異の蓄積により起こる。ゲノムは決して安定ではなく、変異誘発とそれに対する修復が常に繰り返されていることが明らかになっている。

「ゲノムプロファイリング (Genome profiling, GP) 法」はゲノムの一部の遺伝子断片群をランダム PCR により増幅し、増幅産物を温度勾配ゲル電気泳動 (TGGE) にかけて、泳動パターンを得て、コントロールと比較することにより、配列関連情報をシーケンシングせずに取得する方法である。これまでに、生物の同定・分類、個体間や組織間でのゲノムの差異の検出、化学物質の変異原性の解析など幅広い用途に適用可能であることが示されてきた。これまでの GP 法では、DNA 調製、PCR、温度勾配ゲル電気泳動がそれぞれ個別の手作業として行われてきた。しかし、膨大な情報を得るためには、これらの多並列一体化が必須となる。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、従来マニュアル操作であった GP 法をハードウェアとソフトウェアの両面から改良することにより、画像情報を高速に取得できるようにする。そして、変異原性解析等の各種用途への応用や、GP 法の画像情報と DNA 配列情報を関連づけたデータベースの構築へとつなげる。

## 3. 研究の方法

- (1) ハードウェアの開発：複数の TGGE を同時に行える Multiple TGGE の開発に取り組んだ。
- (2) ソフトウェアの開発：TGGE の泳動パターンでは、様々な濃淡や線特徴が表出する。従来の輪郭線抽出アルゴリズムでは、このようなぼやけた線の輪郭追跡が困難である。そこで、TGGE の泳動パターンを追跡する手法を開発し、変曲点を検出できるようにすることに取り組んだ。
- (3) ハードとソフトの融合：等温増幅法であるリコンビナーゼポリメラーゼ増幅法 (Recombinase Polymerase Amplification 法, RPA 法) を用いて目的の DNA 断片を増幅させる技術の構築に取り組んだ。さらに、TGGE で DNA 断片中の 1 塩基の変異を検出することに取り組んだ。

## 4. 研究成果

### (1) ハードウェアの開発

MMV (Microarray with Manageable Volume) マイクロアレイはチップ間のサンプルの移送が遠心操作で行えるマイクロアレイである。従来開発されたものは、1024 ウェルであり、1 ウェルあたりの体積が 0.5 $\mu$ L であった。今回、1 ウェルあたりの体積が 5 $\mu$ L である 100 ウェルの MMV チップを設計し、3D プリンターで作製した (図 1)。さらに、この MMV チップを用いて PCR が進むことを確認した。

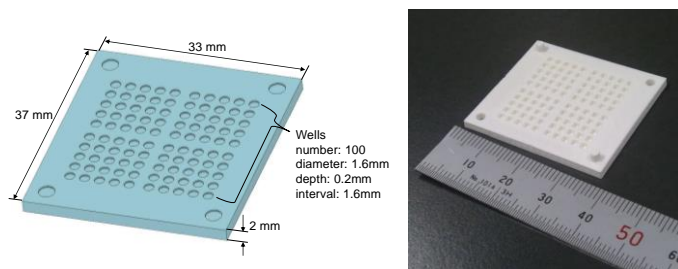


図1. 100 ウェル MMV チップ. (左) デザイン. (右) 外観. 本チップは PLA を材料とし、3D プリンター (Ultimaker 3, Netherlands) を用いて作製した。

マイクロ TGGE については、まず、1 枚のゲルに 2 サンプルがアプライでき、同時に TGGE が行えるゲルカセットを設計し、作製した (図 2A, B)。従来の TGGE 装置を用いて温度勾配や電流等の条件を最適化した結果、2 サンプルで同じ TGGE のパターンが得られた (図 2C)。次に、1 枚のゲルに 5 サンプルがアプライでき同時に TGGE ができるゲルカセットと専用装置を設計し、作製した (図 3A, B)。このシステムでは、4 カ所の温度を設定することにより、1 枚のゲルの左から右に 3 つの温度勾配 (低→高、高→低、低→高) をかけることができる。条件を最適化した結果、5 サンプルで同じ TGGE のパターンが得られた (図 3C)。

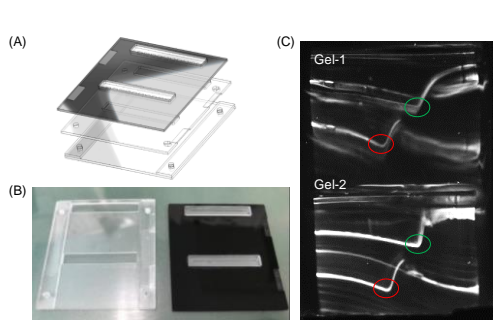


図2. 2 ゲル対応マイクロ TGGE. (A) デザイン. (B) 外観. 1 枚のゲルの上下それぞれにサンプルをアプライし、現行のマイクロ TGGE 装置で泳動する。(C) 解析パターン. 上下のゲルのいずれにおいても、2 種のレファレンスサンプル (Ref. 1, Ref. 6) で同じパターンが得られた。

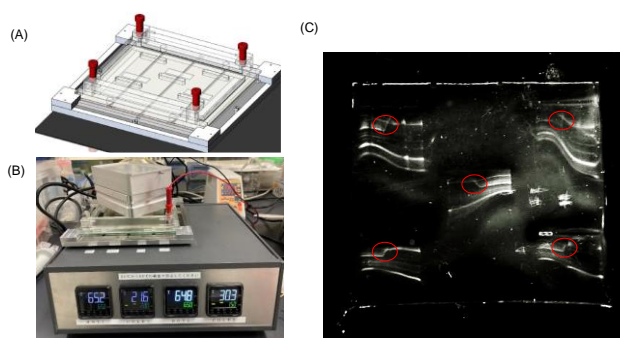


図3. 5 ゲル対応マイクロ TGGE. (A) デザイン. (B) 外観. 1 枚のゲルの 5 カ所にサンプルをアプライし、新たに製作した TGGE 装置で泳動する。(C) 解析パターン. 5 カ所のいずれにおいても、Ref. 1, Ref. 6 で同じパターンが得られた。

## (2) ソフトウェアの開発

まず入力画像に対して軌跡の濃淡さや背景領域の濃淡差を正規化する処理を適用し、軌跡間並びにサンプル間の濃淡差の差異による検出性能のばらつきを抑制した。さらに軌跡検出処理の精度向上を意図して軌跡と背景間のコントラスト強調処理を施し、軌跡の検出処理を実装した。さらに局所特微量や局所的フィルタ適用の処理による精度向上を試みたが、TGGE 画像によっては軌跡や変曲点を検出できない事例があることが判明した。

そこで、主として深層学習による軌跡検出処理ならびに変曲点検出を実行する処理の実装を行い、精度向上の可能性を検証した。まず、深層学習のネットワークアーキテクチャとしては、分担者がこれまでに採用し、別種の画像にて良好な結果を得た経験のある RetinaNet を選択した。軌跡強調処理を施した場合、出力画像は軌跡が強調される半面、背景領域に点状のノイズも強調されてしまうという問題については、その画像に対して軌跡を学習させた RetinaNet をベースとして軌跡領域以外の背景 (ノイズ) 領域を分割、除去し、その後に変曲点を学習させた別の RetinaNet を適用して変曲点を出力させる手法を設計、実装した。これとは別に YOLOv2 を適

用して変曲点を適用して変曲点を検出する手法についても実装した。これらを比較した結果、YOLO では過検出が抑制されるものの検出漏れも多く発生し、RetinaNet を基本としたものは検出漏れは少ないものの、過検出が目立つ結果となった。双方の問題を改善する方策を検討したところ、YOLO における検出漏れを改善するよりも RetinaNet ベースの手法の改善により過検出を減少させる方が有望であると判断し、損失関数の再検討を行った。損失関数は変曲点検出時のバウンディングボックス予測確率と位置、領域分割に関するものの和とし、領域分割に関する項に関する重みの設定を複数種類検討し、それぞれの設定における精度を求め比較を行った (図 4)。その結果、前景と背景の割合をそのまま重みとしていた以前の設定に対して、それに 0.5 以下、あるいは 2 以上を乗じた場合により良好な精度が得られることが判明した (図 5)。

• Segmentation loss function

$$w_f = k * \frac{\#backgroundpixel}{\#foregroundpixel}$$

$$L_{seg} = -w_f \sum_{i,j,s_{i,j}=1}^{w,h} \log(\hat{s}_{i,j}) - w_b \sum_{i,j,s_{i,j}=0}^{w,h} \log(1 - \hat{s}_{i,j})$$

	k = 0.25	k = 0.5	k = 1	k = 1.5	k = 2	k = 3	k = 4
Bacillus+NIH	0.24	0.26	0.13	0.15	0.17	0.15	0.18
	0.28	0.30	0.18	0.23	0.27	0.24	0.25
	0.65	0.69	0.71	0.62	0.69	0.63	0.66
HIV	0.18	0.26	0.05	0.04	0.11	0.09	0.08
	0.16	0.30	0.07	0.07	0.18	0.12	0.11
	0.67	0.69	0.73	0.60	0.68	0.73	0.67

Previous setting, better, much better, worse

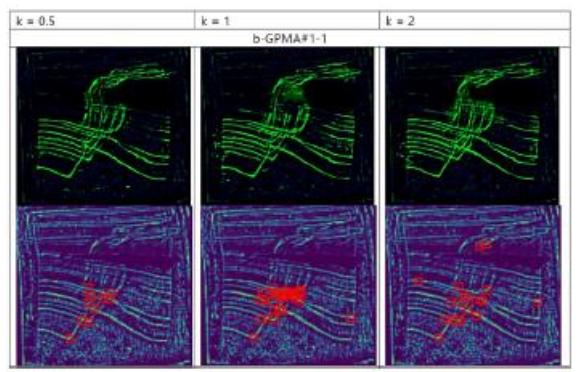


図 4. 変曲点検出に関する損失関数内の重み k の変化による MAP (mean average precision) の変化。

図 5. RetinaNet をベースに独自の改良を加えた提案手法における損失関数の重み k の変化に伴う変曲点認識結果の例。赤の矩形は認識された変曲点を含む領域である。

(3) ハードとソフトの融合

(3-1) RPA 法の技術の構築

一定温度の DNA 増幅法であるリコンビナーゼポリメラーゼ増幅 (RPA) 法を実施するのに必要な酵素である、リコンビナーゼ (Rec) である uvsX と uvsY、1 本鎖 DNA 結合タンパク質 (SSB) である gp32 の組換え体を、大腸菌を宿主として生産した (図 6)。自家調製の Rec と SSB および市販の Po1 と ATP 再生系酵素を用いて RPA 反応を実現した。統計学的手法による最適化の結果、反応効率を、市販の Twist 社の RPA キットと同程度までに高めた (図 7)。

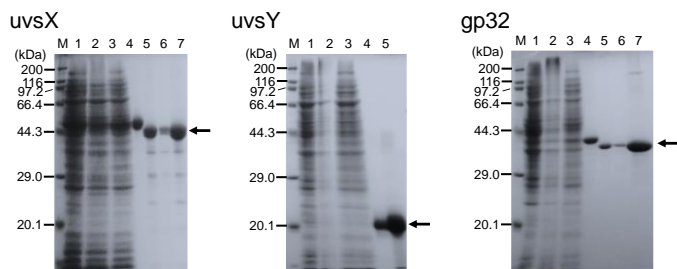


図 6. uvsX、uvsY、gp32 を精製したときの各工程で得られた画分の 12.5% アクリルアミド電気泳動。レーン M: マーカー、1: 発現菌体を超音波破碎した後遠心で得られた上清、2: ポリエチレンジミンを加え、夾雑する核酸を沈殿させた後の上清、3: 硫酸分画の活性画分 4: ニッケルアフィニティーカラムクロマトグラフィーの活性画分、5 (uvsX と gp32): トロンビン処理物、6 (uvsX と gp32): DEAE カラムクロマトグラフィーの活性画分、7 (uvsX と gp32) および 5 (uvsY) 精製標品。

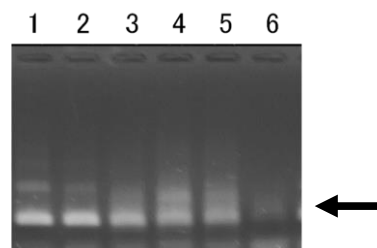


図 7. RPA 法の反応物の 2% アガロースゲル電気泳動。標的 DNA の分子数: レーン 1:  $6 \times 10^8$ 、レーン 2:  $6 \times 10^6$ 、レーン 3:  $6 \times 10^4$ 、レーン 4: 600、レーン 5: 60、レーン 6: 0。矢印は増幅産物の位置を示す。

### (3-2) TGGE による 1 個の変異の検出

HIV-1 逆転写酵素で最も多く現れる薬剤耐性変異である M184V を題材とした。282 bp の野生型の遺伝子断片と変異型の遺伝子断片 (図 8) を TGGE にかけて結果を図 9 に示す。WT と M184V の変曲点の位置は明らかに異なっており、両者が TGGE で識別できることが示された。今後、他の変異に対しても同様の識別が可能であるかどうかを検討する。

```
gacgtggcgacgcctacttcagcgtgccccctggacgaggacttcag
gaagtacaccgccttcaccatcccagcatcaacaacgagacccccg
gcatcaggtaccagtacaacgtgctgccacagggatgaaaggatca
ccagcaatattccaagtagcatgacaaaaatcttagagccttttag
aaaacaaaatccagacatagttatctatcaatacatggatgatttgt
g
atgtaggatctgacttagaaaatagggcagcatagaacaaaaatagag
```

図 8. HIV-1 逆転写酵素の 282bp の遺伝子断片の配列。  
赤字の部分が a であるのは野生型で、g であるのが M184V の  
変異 (184 番目のメチオニン残基がバリンに置換) を有する  
遺伝子である。

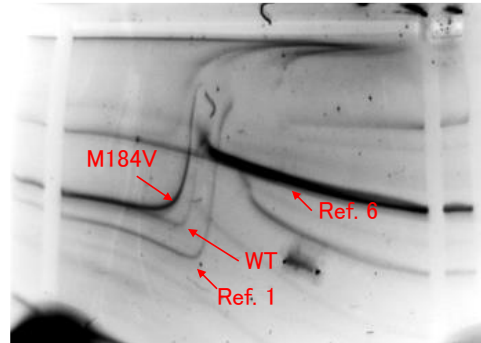


図 9. TGGE のパターン。  
Ref. 1、Ref. 6、野生型遺伝子断片 (WT)、M184V の  
変異を有する遺伝子断片 (M184V) を TGGE にか  
けたときのパターンを示す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okano, H., Baba, M., Hidese, R., Iida, K., Li, T., Kojima, K., Takita, T., Yanagihara, I., Fujiwara, S., and Yasukawa, K.	4. 巻 115
2. 論文標題 Accurate fidelity analysis of the reverse transcriptase by a modified next-generation sequencing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Enzyme Microbial Technology	6. 最初と最後の頁 81-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.enzmictec.2018.05.001.	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 Tsukiashi, M., Baba, M., Kojima, K., Himeda, K., Teisuke T., and Yasukawa, K.	4. 巻 165
2. 論文標題 Construction and characterization of ribonuclease H2 knockout NIH3T3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 249-256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy101.	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 Pho, K., Amin M. K. M., Yoshitaka, A.	4. 巻 13
2. 論文標題 Segmentation-driven Hierarchical RetinaNet for Detecting Protozoa in Micrograph	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Semantic Computing	6. 最初と最後の頁 393-413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1142/S1793351X19400178	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 Rathore, H., Biyani, R., Kato, H., Takamura, Y., Biyani, M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Palm-size and one-inch gel electrophoretic device for reliable and field-applicable analysis of recombinase polymerase amplification	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4953-4972
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9AY01476D	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 Nishimura, T., Baba, M., Ogawa, S., Kojima, K., Takita, T., Crouch, R. J., and Yasukawa, K.	4. 巻 166
2. 論文標題 Characterization of six recombinant human RNase H2 bearing Aicardi-Goutieres syndrome causing mutations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 537-545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvz073	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 Ishizuka, K., Tsutsumi, Y., Baba, M., Biyani, R., Meng, C.W., Biyani, M., Takagi, M., Jaiswal, J., Sharma, B., Kojima, K., Takita, T., and Yasukawa, K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase activity by the extracts of Indian plants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 17-22
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 Baba, M., Kojima, K., Nishimura, T., Sugiura, T., Takita, T., Uehara, R., Crouch, R. J., and Yasukawa, K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Val143 of human ribonuclease H2 is not critical for, but plays a role in determining catalytic activity and substrate specificity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0228774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0228774	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 保川清	4. 巻 49
2. 論文標題 リコンビナーゼポリメラーゼ増幅法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床化学	6. 最初と最後の頁 220-221
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 無
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 Juma, K. M., Kojima, K., Takita, T., Natsuaki, K., and Yasukawa, K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Comparison of sensitivity and rapidness of PCR, recombinase polymerase amplification, and RNA-specific amplification for detection of Rice yellow mottle virus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 27-32
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kojima, K., Juma, K. M., Akagi, S., Hayashi, K., Takita, T., O' Sullivan, C. K., Fujiwara, S., Nakura, Y., Yanagihara, I., and Yasukawa, K.	4. 巻 131
2. 論文標題 Solvent engineering studies on recombinase polymerase amplification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 219-224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.10.001	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 Narukawa, Y., Kandabashi, M., Li, T., Baba, M., Kojima, K., Iida K, Hiyama, T., Yokoe, S., Yamasaki, T., Takita, T., and Yasukawa, K.	4. 巻 未定
2. 論文標題 Increase in thermostability of Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase by introducing a disulfide bridge in the ribonuclease H region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Protein Engineering, Design & Selection	6. 最初と最後の頁 未定
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 -

〔学会発表〕 計28件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 保川清
2. 発表標題 酵素の改良と核酸増幅への応用
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Manish Biyani
2. 発表標題 現場使用が可能で操作が容易な等温RNA/DNA増幅反応の電気化学センサー 日本農芸化学会2019年度大会シンポジウム「現場で使用可能な核酸検査実現のための技術開発」
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kevin Maafu Juma、兒島憲二、赤木志保実、林魁一、滝田禎亮、 Ciara K. O' Sullivan、藤原伸介、名倉由起子、柳原格、保川清
2. 発表標題 リコンビナーゼポリメラーゼ増幅法の溶媒工学的研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Alteration of enzymes and their application in rapid nucleic acid amplification to combat the virus pandemic
3. 学会等名 BICON2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kevin Maafu Juma, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Keiko T. Natsuaki, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Comparison of sensitivity and rapidness of PCR, recombinase polymerase amplification, and RNA-specific amplification for detection of Rice yellow mottle virus
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 One-step RT-PCR using the genetically variant of DNA polymerase with reverse transcriptase activity
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Himankshi Rathorea, Radhika Biyania, Hiroto Kato, Yuzuru Takamura, Kenji Kojima, Kiyoshi Yasukawa, Manish Biyani
2. 発表標題 ンプルな電気泳動と電気化学的センサーを用いた信頼でき現場使用が可能なRPA法 による解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬場美聡、兒島憲二、西村拓人、杉浦拓也、滝田禎亮、上原了、Robert J. Crouch、保川清
2. 発表標題 ヒトリボヌクレアーゼH2のVal143は触媒活性と基質特異性に重要な役割を果たす
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神田橋眞子、李瞳陽、生川雄太郎、馬場美聡、兒島憲二、滝田禎亮、肥山貴圭、山崎友実、保川清
2. 発表標題 ジスルフィド結合導入によるMMLV 逆転写酵素の耐熱化
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 姫田康平、月足元希、馬場美聡、兒島憲二、滝田禎亮、保川清
2. 発表標題 リボヌクレアーゼH2を欠損させたマウス線維芽細胞株NIH3T3の性状解析
3. 学会等名 2019年度日本生化学会近畿日本支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村拓人、馬場美聡、小川紗央里、兒島憲二、滝田禎亮、Robert J. Crouch、保川清
2. 発表標題 エカルディーグティエール症候群を引き起こす変異を有する6種類の組換えヒトリボヌクレアーゼH2の性状解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小川紗央里、西村拓人、馬場美聡、兒島憲二、滝田禎亮、Robert J. Crouch、保川清
2. 発表標題 エカルディーグティエール症候群（AGS）の患者で同定された変異を有する6種類の組換えヒトRNase H2の性状解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中部支部合同大会（関西支部第510回講演会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyoshi Yasukawa, Kenji Kojima
2. 発表標題 RNA amplification
3. 学会等名 BICON-2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Kojima, Itaru Yanagihara, Shinsuke Fujiwara, Manish Biyani, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Recombinase polymerase amplification
3. 学会等名 BICON-2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuto Tsutsumi, Keiko Ishizuka, Misato Baba, Kosaku Nishimura, Keishi Hata, Saori Takahashi, Shozo Sakuda, Teisuke Takita, Kenji Kojima, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Inhibition of the DNA polymerase activities of HIV-1 reverse transcriptase and HIV-1 replication by <i>Brasenia schreberi</i> (Junsai)
3. 学会等名 BICON-2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuto Nishimura, Misato Baba, Saori Ogawa, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Robert J. Crouch, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Characterization of recombinant human ribonuclease H2 bearing Aicardi-Goutieres syndrome causing mutations
3. 学会等名 MECC 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nguyen. A., Yoshitaka, A.
2. 発表標題 Less Visually Different Objects Recognition with Aggregated Residual Siamese Network
3. 学会等名 Proc. 11th International Conference on Knowledge and System Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohei Himeda, Motoki Tsukiashi, Misato Baba, Saori Ogawa, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Construction and characterization of ribonuclease H2 knockout mouse NIH3T3 cells
3. 学会等名 MECC 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 月足元希、馬場美聡、兒島憲二、滝田禎亮、保川清
2. 発表標題 リボヌクレアーゼH2をノックアウトしたNIH3T3細胞株の性状解析
3. 学会等名 2018年度日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 兒島憲二、馬場美聡、西村拓人、滝田禎亮、上原了、Robert J. Crouch、保川清
2. 発表標題 部位特異的変異導入によるヒトリボヌクレアーゼ H2の基質特異性の改変
3. 学会等名 2018年度日本生化学会近畿日本支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村拓人、馬場美聡、兒島憲二、滝田禎亮、保川清
2. 発表標題 エカルディーグティエール症候群 (AGS) の患者で同定された変異を有する組換えヒトRNase H2の性状解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第505回講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kiyoshi Yasukawa, Hiroyuki Okano, Misato Baba, Kei Iida, Ryota Hidese, Itaru Yanagihara, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Shinsuke Fujiwara
2. 発表標題 Next-generation sequencing-based analysis of reverse transcriptase fidelity
3. 学会等名 BICON-2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 月足元希、馬場美聡、兒島憲二、姫田康平、滝田禎亮、保川清
2. 発表標題 リボヌクレアーゼH2を欠損させたマウス線維芽由来NIH3T3細胞の樹立
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Motoki Tsukiashi, Misato Baba, Kenji Kojima, Kouhei Himeda, Teisuke Takita, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Construction and characterization of ribonuclease H2 knockout NIH3T3 cells
3. 学会等名 RNaseH2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Misato Baba, Motoki Tsukiashi, Yutaro Narukawa, Parmila Kumari, Sunita Ghimire Gautam, Koji Matsuoka, Koichi Nishigaki, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Improved GPMA (genome profiling-based mutation assay) using mammalian cells
3. 学会等名 RNaseH2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kiyoshi Yasukawa, Hiroyuki Okano, Misato Baba, Kei Iida, Ryota Hidese, Itaru Yanagihara, Kenji Kojima, Teisuke Takita, Shinsuke Fujiwara
2. 発表標題 Next-generation sequencing-based analysis of reverse transcriptase fidelity
3. 学会等名 RNaseH2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Kojima, Misato Baba, Takuto Nishimura, Takuya Sugiura, Teisuke Takita, Ryo Uehara, Robert J. Crouch, Kiyoshi Yasukawa
2. 発表標題 Mutations of Val143 in the catalytic subunit of human RNase H2 affect its substrate preference
3. 学会等名 RNaseH2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡野啓志、馬場美聡、秀瀬涼太、飯田慶、李瞳陽、兒島憲二、滝田禎亮、柳原格、藤原伸介、保川清
2. 発表標題 改良された次世代シーケンスによる逆転写酵素の正確性の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

酵素化学研究室ホームページ  
<http://www.enzchem.kais.kyoto-u.ac.jp/>

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	ピヤニ マニッシュ  (Biyani Manish)  (00599780)	北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・特任教授    (13302)	
研究 分 担 者	吉高 淳夫  (Yoshitaka Atsuo)  (60263729)	北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授    (13302)	

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