

戦略的創造研究推進事業
—CREST(チーム型研究)—

研究領域「統合 1 細胞解析のための
革新的技術基盤」

研究領域事後評価用資料

研究総括：菅野 純夫

2022 年 1 月

目次

1. 研究領域の概要	2
(1) 戦略目標	2
(2) 研究領域	5
(3) 研究総括	6
(4) 採択研究課題・研究費.....	7
2. 研究総括のねらい.....	11
3. 研究課題の選考について.....	12
4. 領域アドバイザーについて.....	15
5. 研究領域のマネジメントについて.....	17
6. 研究領域としての戦略目標の達成状況について.....	20
7. 総合所見	26

1. 研究領域の概要

(1) 戦略目標

① 戦略目標名

「生体制御の機能解明に資する統合 1 細胞解析基盤技術の創出」

② 達成目標

本戦略目標では、1 細胞レベルの網羅的な生体分子解析技術の開発と、生体組織等の個々の細胞における時空間的な各種情報の解析や得られた情報にもとづく生体制御の機能解明に資する基盤技術の開発を目標とする。具体的には以下の達成を目指す。

○分離した 1 細胞における核酸とその発現・修飾、タンパク質、代謝産物等の個々の細胞を特徴づける情報を定量的・網羅的に解析する各種オミクス解析の基盤となる技術やシステムの開発

○生体組織等における個々の細胞それぞれの各種分子情報について、時間的・空間的に観察・解析する基盤技術の開発

○網羅的 1 細胞解析で得られた分子情報等を基にして、細胞の多様性や発生分化、生体全体の制御等の理解に資する情報学的・工学的手法や技術、システムの開発及び高度化

③ 将来実現しうる重要課題の達成ビジョン

本戦略目標は、1 細胞、特に生体組織を構成する 1 細胞のゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム等の各種オミクスの網羅的な解析を行い、生体機能が 1 細胞レベルからどのように実現されているか、その階層構造を時間的・空間的に解明し定量的分子情報を取得することによって、生体機能の統合的な理解を目指す。

本戦略目標を達成することで、細胞集団の平均値でしか細胞の分子レベルでの特性を記述できていない現状が打破され、同一の遺伝情報を持ちながらも遺伝子の発現状態が異なるというような細胞 1 つ 1 つの個性を測定できるようになるため、細胞間での機能的多様性を分子レベルで把握・理解することが可能となり、生物学全般に関するイノベーション創出の基盤技術が確立される。

④ 具体的内容

(背景)

細胞は生体を構成する最小の機能素子であるが均一ではなく、形態学的に同一に見える細胞でも、その内部状態を規定するゲノム、エピゲノムや各種 RNA の存在、タンパク質発現などの状態によって大きく異なることが知られている。1 細胞レベルで網羅的生体分子情報解析を行うことは、従来、困難であったが、次世代シーケンサーによる DNA 解析の革命を受け、その実現の可能性が高まっている。1 細胞レベルでの網羅的解析の実現を視野に入れ

た研究開発はゲノミクス以外でも推進されており、我が国における例としては、従来法の100倍の感度のエピゲノム解析を達成し、国際エピゲノムコンソーシアム（IHEC）において注目されるなどの技術革新が挙げられる。

（研究内容）

本戦略目標では以下の研究を推進する。

○先端的ナノテクノロジー等を活用して1細胞を分離する技術を確認し、これら分離1細胞を対象にゲノム解析（SNP解析、CNV解析など）、エピゲノム解析（DNAメチル化やヒストン修飾の解析など）、トランスクリプトーム解析（RNA解析など）、プロテオーム解析（タンパク質同定など）、メタボローム解析（代謝産物同定など）等を行うための基盤となる技術やシステムを開発する。

○さらに、1細胞レベルでの定量的分子情報を把握するためには、分離した細胞だけでなく、生体組織等を構成する細胞1つ1つの位置情報・形態情報を保持した状態で核酸・タンパク質・代謝産物等を網羅的に解析する必要があるため、これらにかかる手法、技術及びシステムの開発を行う。

○また、上記の技術を実現するための情報処理技術、さらに上記の技術を用いて取得した大量データを処理し1細胞レベルでの定量的分子情報を把握するための統合情報解析技術を確認する。

⑤政策上の位置付け（政策体系における位置付け、政策上の必要性・緊急性等）

第4期科学技術基本計画（2011年8月19日閣議決定）では、「III. 我が国が直面する重要課題への対応 2. 重要課題達成のための施策の推進 (5) 科学技術の共通基盤の充実、強化 i) 領域横断的な科学技術の強化」として、「先端計測及び解析技術等の発展につながるナノテクノロジーや光・量子科学技術、シミュレーションやe-サイエンス等の高度情報通信技術、数理科学、システム科学技術など、複数領域に横断的に活用することが可能な科学技術や融合領域の科学技術に関する研究開発を推進する。」としている。また、科学技術イノベーション総合戦略（2013年6月7日閣議決定）では、「第2章 科学技術イノベーションが取り組むべき課題 IV. 地域資源を‘強み’とした地域の再生 3. 重点的取組 (1) ゲノム情報を活用した農林水産技術の高度化」において「重要作物等のゲノムや代謝産物等の解析、データベース構築等の情報基盤の整備、有用遺伝子の特定、DNA マーカーの開発、バイオインフォマティクスを活用した多数の遺伝子が関与する重要形質の改良法や有用遺伝子の迅速な特定法の開発、新品種等の作出効率を飛躍的に高める育種技術の開発等を推進する。」としている。

⑥他の関連施策との連携及び役割分担・政策効果の違い

独立行政法人科学技術振興機構（JST）CREST「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」（2008年度開始）では、フォトリソグラフィ等のトップダウンプロ

セスと自己組織化に代表されるボトムアッププロセスの高度化と統合化を進めることによって、革新的な機能を発現する次世代ナノシステムの創製を目指すものであるが、この研究領域において開発されたマイクロ流路を用いた細胞分離技術を要素技術として活用し、本戦略目標の目指す統合1細胞解析基盤技術を創出するものである。

また、文部科学省「セルイノベーションプログラム」(2009年度～2013年度)では、革新的な解析能力をもつ高速シーケンサーを整備した「シーケンス拠点」と、多様かつ大量のデータを取扱う「データ解析」拠点を構築し、細胞機能解析研究を行うとともに、次世代シーケンサーを利用して従来の技術で取得不可能だった細胞情報を取得するための革新的な技術開発を行うものである。このプログラムで得られた世界的に競争力のある技術である次世代シーケンサーを用いたRNA解析技術やエピゲノム解析技術等を要素技術として活用し、本戦略目標の目指す統合1細胞解析基盤技術を創出するものである。

⑦科学的裏付け(国内外の研究動向を踏まえた必要性・緊急性・実現可能性等)

米国は1細胞解析分野を、1,000ドルゲノム解析技術に次ぐ技術開発の戦略ターゲットに指定し、矢継ぎ早にプロジェクトを立ち上げている。まず、2011年11月に「Studies to evaluate cellular heterogeneity using transcriptional profiling of single cells (U01)」を策定して3課題を選定している。さらに、2012年に入り、5年間9000万ドル以上をかける「The Single Cell Analysis Program (SCAP)」をスタートし、3つの研究センターの設立と26の新しいプロジェクトの発足が予定されている。さらに、1細胞解析の新技术開発「Exceptionally Innovative Tools and Technologies for Single Cell Analysis (R21)」で15課題を選定している。

アジアにおいては中国で世界最大のゲノム解析センターとなったBGI(深セン市)が、矢継ぎ早に1細胞ゲノム解析の論文を発表している。また、シンガポールでは、1細胞の遺伝子解析に特化したアジア初の研究所「Single-Cell Omics Center (SCOC)」を米国企業と共同で設立している。

EUでは、300万ユーロ規模の「Platform for Advanced Single Cell Manipulation and Analysis (PASCA)」プロジェクトが2013年に終了している。次期計画中で、米国に呼応した形でのプロジェクトづくりの検討が進んでいる。

我が国は関連研究分野(プロテオミクス等)の論文被引用率を見ても特に優位にあることから本戦略目標に基づき研究を推進することで国際競争力を更に高める必要がある。

⑧検討の経緯

JST 研究開発戦略センター(CRDS)が、俯瞰ワークショップ「ライフサイエンス分野の俯瞰と重要研究領域」の「ゲノム・融合分野」について検討報告書(2011年3月)をとりまとめ、同報告書に1細胞解析プロジェクトの提案がされている。また、1細胞関連国際会議「The International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis」が日本

人研究者の主導により、世界に先駆けて 2006 年から開催されている。同会議で 1 細胞解析の重要性が指摘され、それが米国、EU でのプロジェクトの推進につながっており、我が国における中核となるプロジェクト発足が望まれている。

CRDS におけるワークショップ (2013 年 7 月 11 日) が開催され、学術コミュニティにおいても、1 細胞解析の重要性が議論されており、学術シンポジウム等の開催を企画している (関連学会：日本生物物理学会、日本バイオインフォマティクス学会、日本細胞生物学会、日本生化学会、日本癌学会、日本分子生物学会、日本ケミカルバイオロジー学会、日本植物学会、日本製薬工業協会、日本バイオイメージング学会、日本薬学会、日本バイオインダストリー協会、ヒューマンサイエンスコミュニティ)。

本戦略目標は、これらの検討の結果を踏まえて策定したものである。

⑨留意点

本戦略目標は、革新的な基盤技術を創出することによって、生体や組織等の複数細胞における生体分子について、細胞の位置情報を保持しつつ 1 細胞レベルでの経時変化等を観察・解析するといった挑戦的な内容を含むものである。そのため、研究開発の実施にあたっては、開発する技術を用いて重要な生物学的問題等にアプローチする研究者と開始当初からの緊密な協力体制が望まれる。

(2) 研究領域

「統合 1 細胞解析のための革新的技術基盤」(2014 年度発足)¹

本研究領域は、1 細胞中の生体分子を定量的かつ網羅的に測定する方法論的技術的基盤の構築を目指します。特に、生体組織中の個々の細胞における生体分子の網羅的時間的变化や相互作用を定量的に記述するために必要となる技術や方法論を創出し基盤化することを目的とします。本研究領域が戦略的に構築する 1 細胞解析基盤は、1 細胞レベルのゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム等の同時大量取得・解析技術およびそれを支える周辺技術からなります。その際、1 細胞解析で先行する技術分野においては市場を意識した実装に比重を置き、いまだ途上の技術分野においては原理的革新とその実証に重きを置きますが、開発される技術や方法論には何らかの実問題への適用を求め、生命現象における機能解明に資する成果へとつなげます。対象は広く細胞の多様性や細胞状態の遷移が関与する現象に門戸を開きます。1 細胞解析基盤は国際標準化やシステム化・パッケージ化により付加価値の増大が期待されるため、技術開発以外でも集学的発想が重要になります。これを踏まえ、本研究領域では学際的なチームの参加を歓迎します。また基盤構築力の維持・向上のため、対応するさきがけ研究領域および関連プログラム等との連

¹ CREST 「統合 1 細胞解析のための革新的技術基盤」概要

携も視野に、研究課題の大胆な見直しによる成果の最大化を図ります。

(3) 研究総括

菅野 純夫 (千葉大学未来医療教育研究機構 特任教授)

上記詳細は、以下 URL をご参照ください。

JST 公開資料「新規研究領域の事前評価」

<https://www.jst.go.jp/kisoken/evaluation/before/index.html>

2013 年度新規研究領域の事前評価

https://www.jst.go.jp/kisoken/evaluation/before/hyouka_h26.pdf

(4) 採択研究課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	所属・役職 採択時 ²	研究課題	研究費 ¹
2014 年度	北森 武彦	東京大学大学院工学系研究科・教授	拡張ナノ流体デバイス工学によるピコ・フェムトリットル蛋白分子プロセッシング	430
	澤田 和明	豊橋技術科学大学大学院工学研究科・教授	非標識神経伝達物質イメージセンサによる細胞活動可視化システム構築と脳機能の時空間解析	422
	高村 禅	北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科・教授 (北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科・教授)	多チャンネルプレーナ技術による生体組織分子解析とその神経疾患応用	266
	本郷 裕一	東京工業大学生命理工学院・教授 (東京工業大学大学院生命理工学研究科・教授)	環境細菌 1 細胞ゲノム解析のためのマイクロデバイス開発	271
	吉野 知子	東京農工大学大学院工学研究院・教授 (東京農工大学大学院工学研究院・准教授)	抗がん剤開発に資する単一 CTC の核酸解析プラットフォーム構築	305
2015 年度	石井 優	大阪大学大学院生命機能研究科・教授	動く 1 細胞の「意思」を読み取る in vivo 網羅的動態・発現解析法の開発	370
	岡田 康志	理化学研究所生命機能科学研究センター・チームリーダー	超解像 3 次元ライブイメージングによるゲノム DNA の構造、エピゲノム状態、転写因子動態の経時的	312

		ダー (理化学研究所生命システム研究センター・チームリーダー)	計測と操作	
	橋本 真一	和歌山県立医科大学医学部先端医学研究所・教授 (金沢大学医薬保健研究域医学系・特任教授)	1 細胞遺伝子発現解析による組織微小環境情報の構築	301
	馬場 健史	九州大学生体防御医学研究所・教授	細胞チップ MS システムを用いた 1 細胞マルチ分子フェノタイプニング	501
	渡邊 直樹	京都大学大学院生命科学部研究科・教授	多重高密度超解像顕微鏡 I R I S による多分子複合体マッピング	363
2016 年度	大川 恭行	九州大学生体防御医学研究所・教授	細胞ポテンシャル測定システムの開発	486
	民谷 栄一	大阪大学産業科学研究所・特任教授 (大阪大学大学院工学研究科・教授)	細胞膜レセプタータンパクの 1 細胞統合解析技術の開発 (1 細胞レセプトーム解析技術の創成)	304
	二階堂 愛	理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー (理化学研究所・情報基盤センター・ユニットリーダー)	臓器・組織内未知細胞の命運・機能の 1 細胞オミクス同時計測	333
			総研究費	4,664

¹各研究課題とも研究期間の総額、進行中の課題は予定を含む(2021 年 12 月 1 日現在)

²変更/異動があった場合、下段に括弧つきで記載

本研究領域では、研究開始当初の予算に加えて、期中に実施されるサイトビジット、領域会議、課題評価会での議論を参考にして、①研究加速、②グループ追加、③研究延長支援の観点で、該当するチームに総括裁量経費による増額を行った。特に、①では評価会等での議論及び期中の進捗状況を踏まえ各チームからの要望に基づく増額、②ではさきがけ卒業生参加によるグループ追加支援（岡田チーム）、③では吉野チームの POC 検討のための研究延長支援を実施した。

また、総括裁量経費による増額に加えて、CREST の全体予算から研究加速等の目的で配賦される増額支援や、戦略的創造研究推進事業における「国際強化支援」制度を活かした国際共同研究促進、研究期間終了後の論文等の成果発表を支援する「終了課題支援」、さらに、JST の「出産・子育て・介護支援制度」等を活用して、該当するチームに適時適切な増額支援を行っている。また、CREST では、課題事後評価結果に基づいて特に成果が期待される課題に対して、研究期間延長と当該延長期間に必要な研究費の追加支援を実施しており、該当する 2 チーム（澤田チーム、馬場チーム）に対して研究期間の 1 年追加と直接研究費 1000 万円の増額支援を行った。

2020 年度には、戦略的創造研究推進事業の CREST・さきがけ・ACCEL の進行中の研究課題を対象に、新型コロナウイルス感染症 COVID-19 に関する追加的研究の緊急募集が 2 回に分けて行われ、本研究領域からは 3 チーム（1 期：橋本チーム/2 期：岡田チーム、渡邊チーム）の研究提案が採択され、それぞれ追加的研究を実施するための増額を行った。また、戦略的創造研究推進事業では、大学閉鎖や自宅待機など新型コロナウイルス感染症による研究活動の停滞を踏まえ、2020 年度終了課題のうち、研究進捗に影響を被った課題を対象に、最大半年間の研究期間延長が措置された。本研究領域においても、4 チーム（石井チーム、岡田チーム、馬場チーム、渡邊チーム）に対して、2021 年 9 月末まで 6 か月間の研究期間延長と、延長期間中の固定費補填の増額支援を行った。

※総括裁量経費：

領域総予算の中で 10%程度を留保し、総括の裁量によって柔軟な執行が可能な予算としたもの。

※国際強化支援：

海外の研究機関や研究者等のポテンシャルを活用して、研究を加速・推進すること、また、研究成果を広く世界に発信することで、日本の戦略目標の達成に向けた取り組み状況の国際的認知度を高め、事業の推進に有益な海外研究者の協力を得やすい環境作りを行うことを目的として支援を行う制度。

※終了課題支援：

CREST 研究の期間終了後 1 年以内に研究代表者、主たる共同研究者によって発表される論文について、最大 5 件までの経費（論文投稿料、オープンアクセス費、英文校閲費）を JST において支援する制度。

※出産・子育て・介護支援制度：

JST の研究費により雇用された研究員にライフイベントが発生した際に申請・審査を経て、月額 25 万円×支援月数を上限として支援する制度。

※新型コロナウイルス感染症 COVID-19 に関する追加的研究への支援：

新型コロナウイルス感染症の被害軽減や早期解決、あるいは新型コロナウイルス感染症によって顕在化した社会の脆弱性の是正・改善に資する研究開発を速やかに実行することが社会から求められている状況を踏まえ、戦略的創造研究推進事業の CREST、さきがけ、ACCEL で推進中の研究課題に対して、広く新型コロナウイルス感染症 COVID-19 に関する追加的研究のアイデアを募集し、緊急的な追加研究支援が行われた。提案内容が進行中の研究計画と関連性が認められること等を条件に、原則として 2020 年度中を実施期間として 1 課題あたり数百万円～1 千万円（直接経費）程度を追加配賦する研究支援施策。

2. 研究総括のねらい

細胞は、生体を構成する最小の機能単位であり、生命を分子レベルで理解しようとする、1細胞レベルで生体を構成する様々な分子を網羅的・定量的に測定することが必要不可欠である。本研究領域は、ゲノム配列、エピゲノム状態、発現 RNA や発現タンパク質、代謝物等について 1細胞レベルでの網羅的・定量的な測定を行うための技術基盤を開発しようというものである。また、分離された細胞だけでなく、生体組織中の個々の細胞について生体分子の定量的網羅的解析を可能にすること、数千種の生体分子の 1細胞での経時的変化を計測することを目指す。

このような技術基盤の構築の観点で、以下の 4つのカテゴリに分け、これらをカバーできるように募集・採択を行った。

カテゴリ 1:

分離された細胞を対象にゲノム配列、エピゲノム状態、発現 RNA 解析など核酸系の網羅的解析を行うための機器開発。本カテゴリでは、細胞の分離法と 1細胞のゲノム配列、エピゲノム状態、発現 RNA などの核酸系の網羅的解析を可能とする機器の開発を目指します。

カテゴリ 2:

分離された細胞を対象に発現タンパク質や代謝物など核酸系以外の分子の網羅的解析を行うための機器・システム開発。本カテゴリでは細胞の分離法と 1細胞の核酸系以外の生体分子の網羅的解析を可能とする機器・システムの開発を目指します。

カテゴリ 3:

臓器・組織など細胞集団における相互的空間情報を保持したうえで、個々の細胞の生体高分子・代謝物につき網羅的解析を可能とする革新的システムの開発。本カテゴリでは、新しい発想によるシステムの提案を募集します。画像処理付細胞分離ロボットの開発といった内容はカテゴリ 1 に分類されます。

カテゴリ 4:

同一細胞について、生体高分子や代謝物の網羅的解析を時系列で行うシステムの開発。本カテゴリも、斬新な提案を募集します。既存技術でも、生きた細胞を使った 10種類程度のタンパク質の時系列解析は既存技術でも実現できることから、その 100倍から 1000倍の網羅的解析を可能とするシステム開発の提案を募集します。

2014年度戦略的創造研究推進事業（CREST・さきがけ）募集要項第4章より

ただし、各課題の検討を進める際には、カテゴリにこだわらず、適切に連携を図りながら、技術基盤の構築の検討を進めることとした。また、開発する装置・システムは生命現象解明に資するものである必要があり、研究期間終了までに、その観点での POC 取得を目指した。

3. 研究課題の選考について

総括のねらいに記載した4つのカテゴリに分けて、以下のポイントを重視しながら、課題を募集し、選考を行った。

カテゴリ 1：分離 1 細胞解析（ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム）

細胞計測の分野は世界的に厳しい技術開発競争が起こっており、特に、分離された1細胞についての核酸系の解析では既に成果が出始めていたため、次世代シーケンサーにつなげるための1細胞レベルの前処理機器の開発を念頭に置いて、本カテゴリを設定した。また、激的な競争を勝ち抜き、スピーディに成果を出せることが可能な提案を期待するため、本カテゴリのみに分類される提案は、初年度のみ募集とし、研究期間を原則3.5年とした。

カテゴリ 2：分離 1 細胞解析（プロテオーム、メタボローム）

分離した細胞のプロテオーム、メタボロームに使われる質量分析計の感度が1分子レベルに達しておらず、次世代シーケンサーのような決定的な測定プラットフォームもないことから、本カテゴリでは、例えば、質量分析計を極めるのか、新しい方式を開発するのか、前処理に工夫を施すのか、質量分析計そのものの改良に取り組むのか、といった様々な選択肢を想定し、今後の技術基盤となる可能性を秘めた幅広い提案を期待した。

カテゴリ 3：位置情報保持

組織の1細胞レベルのオミクス解析の基盤技術の創出を目指して、原始的な方法か、新しい原理による応用かを問わず、問題解決へのアプローチとして論理的で説得力のある提案を期待した。また、網羅性・定量性よりも相対的位置情報を重視したいと考えた。

カテゴリ 4：網羅的・時系列解析システム

カテゴリ 4 では、現状可能な感度の100倍程度を目途として、数千種の生体分子の1細胞内外での経時変化を計測する提案を募集することとした。また、分離した細胞よりも、組織中の細胞について経時変化を追うことができる提案を優先することとした。

また、募集の際は、開発を加速し「使える」技術とするために、分野を超えた集学的な研究チームの形成を推奨し、研究チームには下記の役割を果たす構成員の参加を求めた。

1) 開発予定の機器・システムを使って、具体的に研究を進める予定の生命科学系の研究者
開発初期、あるいは開発前からユーザーである生命科学の研究者と緊密な連携を組み、実際の例で開発・検証を行っていくことは必須と考えます。なお、構成員となる研究者の研究対象については特に制限はありません。感度的なハードルは高くなりますが、細菌あるいは

細菌集団が研究対象の研究者も、緊密な連携が可能な場合には望ましい構成員となります。

2) 情報処理、情報解析の専門家・情報科学研究者

データの取得、得られたデータの、配列など生物情報への変換、データの可視化、データベースとの連携等で、情報処理法や情報解析法の開発が機器やシステムの開発に大きな役割を果たします。また、得られたデータから生物学的意味を抽出する部分でも情報科学が多くの役割を担います。このため、情報分野を担う構成員の参加を強く推奨します。

3) 企業

カテゴリ 1 では機器の開発を目指すため、大学等の研究者だけでなく、企業の参加が必須と考えます。カテゴリ 2-4 の課題も進捗に応じ、途中から企業の参加を推奨する場合があります。

2014 年度戦略的創造研究推進事業（CREST・さきがけ）募集要項第 4 章より

上記の方針で募集を行った結果、採択された課題は以下の通りである。

2014 年度採択課題

カテゴリ 1 :

- ・環境細菌 1 細胞ゲノム解析のためのマイクロデバイス開発（本郷 裕一/東京工業大学）
- ・抗がん剤開発に資する単一 CTC の核酸解析プラットフォーム構築（吉野 知子/東京農工大学）

カテゴリ 2 :

- ・拡張ナノ流体デバイス工学によるピコ・フェムトリットル蛋白分子プロセッシング（北森 武彦/東京大学）

カテゴリ 3 :

- ・非標識神経伝達物質イメージセンサによる細胞活動可視化システム構築と脳機能の時空間解析（澤田 和明/豊橋技術科学大学）
- ・多チャンネルプレーナ技術による生体組織分子解析とその神経疾患応用（高村 禪/北陸先端科学技術大学院大学）

2015 年度採択課題

カテゴリ 2 :

- ・細胞チップ MS システムを用いた 1 細胞マルチ分子フェノタイピング（馬場 健史/九州大学）

カテゴリ 3 :

- ・動く 1 細胞の「意思」を読み取る in vivo 網羅的動態・発現解析法の開発（石井 優/大阪大学）
- ・1 細胞遺伝子発現解析による組織微小環境情報の構築（橋本 真一/金沢大学）

- ・多重高密度超解像顕微鏡 IRIS による多分子複合体マッピング (渡邊 直樹/京都大学)

カテゴリ 4 :

- ・超解像 3次元ライブイメージングによるゲノム DNA の構造、エピゲノム状態、転写因子動態の経時的計測と操作 (岡田 康志/理化学研究所生命システム研究センター)

2016 年度採択課題

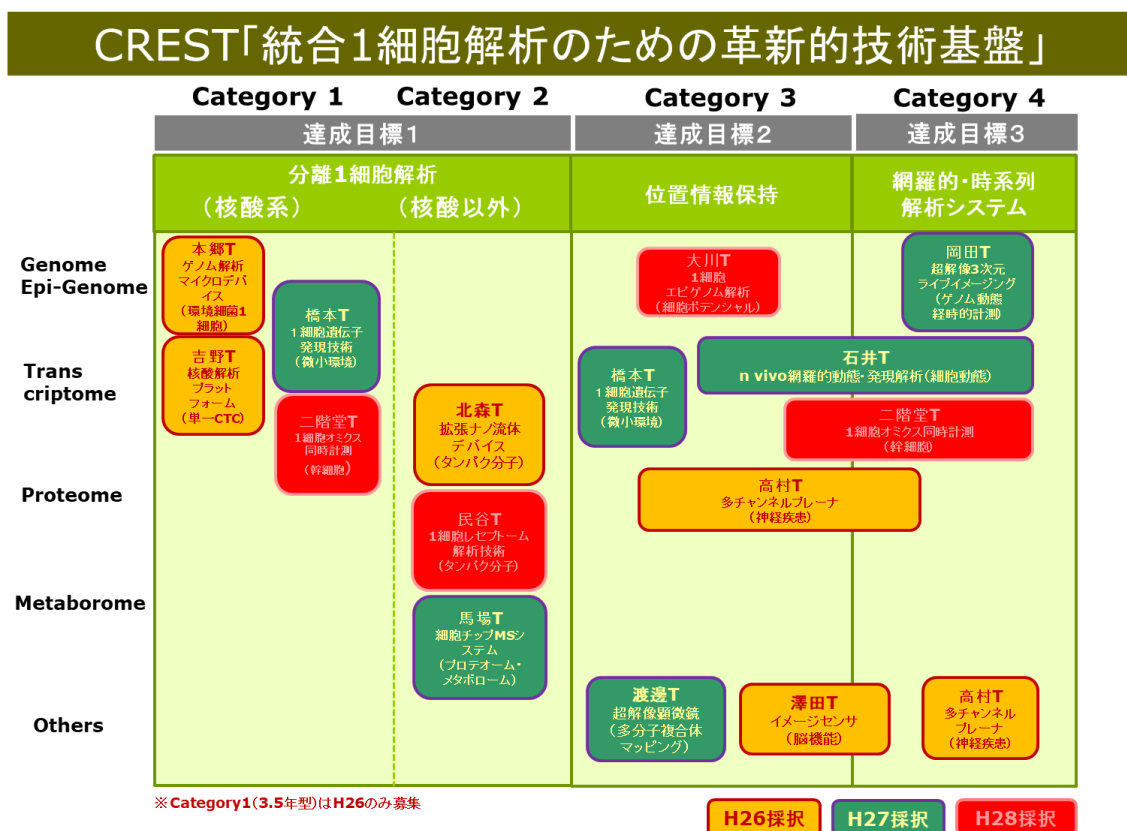
カテゴリ 2 :

- ・細胞膜レセプタータンパクの 1 細胞統合解析技術の開発 (1 細胞レセプトーム解析技術の創成) (民谷 栄一/大阪大学)

カテゴリ 3 :

- ・細胞ポテンシャル測定システムの開発 (大川 恭行/九州大学)
- ・臓器・組織内未知細胞の命運・機能の 1 細胞オミクス同時計測 (二階堂 愛/理化学研究所情報基盤センター)

各採択課題の上記カテゴリ分類は募集時に申請されたものであり、複数のカテゴリに属しているチームもあることから、領域全体として下図のように俯瞰される。



4. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名 (専門分野)	着任時の所属 ¹	役職	任期
岡田 眞里子 (生化学、システム生物学)	理化学研究所 統合生命医科学研究センター (大阪大学蛋白質研究所)	チームリーダー (教授)	2014年10月 ～現在に至る
岡野 清 (分子生物学、生化学、薬理、創薬)	株式会社東レリサーチセンター 生物科学研究部 (京都大学薬学研究科)	理事・部長 (特定教授)	2014年10月 ～現在に至る
落合 淳志 (腫瘍病理、がん)	国立がん研究センター東病院臨床開発センター (国立がん研究センター先端医療開発センター)	分野長 (センター長)	2014年10月 ～現在に至る
神原 秀記 (分析化学、DNA計測、細胞計測)	株式会社日立製作所	フェロー (名誉フェロー)	2014年10月 ～現在に至る
小原 雄治 (分子生物学、ゲノム生物学)	情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 (情報・システム研究機構ライフサイエンス統合データベースセンター)	特任教授 (センター長)	2014年10月 ～現在に至る
瀬々 潤 (データマイニング、バイオインフォマティクス、機械学習)	産業技術総合研究所ゲノム情報研究センター (株式会社ヒューマノーム研究所)	チーム長 (代表取締役社長)	2014年10月 ～現在に至る
瀬藤 光利 (医学、解剖学、細胞生物学、分析化学)	浜松医科大学解剖学講座 (浜松医科大学国際マスメージングセンター／細胞分子解剖学講座)	教授 (センター長／教授)	2014年10月 ～現在に至る
竹山 春子 (マリンバイオテクノロジー、生物工学、微生物学、分子生物学)	早稲田大学理工学術院先進理工学部	教授	2014年10月 ～現在に至る

八重 裕通 (分子生物学、ビジネス開発)	GE ヘルスケア・ジャパン株式会社 ライフサイエンス統括本部 (グローバルライフサイエンス テクノロジーズジャパン株式会 社ビジネス企画室)	ビジネス企画室長 (室長)	2014年10月 ～現在に至る
-------------------------	--	------------------	--------------------

¹変更/異動のあった場合、下段に括弧つき記載

本研究領域では、1細胞解析の装置・システム開発を目的としていることから、領域アドバイザーの人選では、以下の分野について高い専門性を有していることを考慮した。

- ・生物学関連分野：生化学、分子生物学、ゲノム生物学、細胞生物学、生物工学
- ・医学関連分野：病理学、癌、医学
- ・数理関連分野：システム生物学、バイオフィンフォマティクス、機械学習
- ・化学関係：化学、分析化学

また、産業界出身者、女性を配置することを考慮した。

5. 研究領域のマネジメントについて

(1) 研究課題の進捗確認と指導・助言

本研究領域では、装置・システム開発を目標としている。そのために、まず、採択直後に、総括面談を行い、各課題の目標、方向性の確認を行った。年度の初めには、各チームの進捗を踏まえて実施するイベント（サイトビジット、進捗検討会、領域会議、評価会）の計画の概要を策定した。各会議の際に助言を行う他、総括、アドバイザーからの助言を纏めた総括フィードバックシートを作成して、各チームに送付してきた。すべての総括フィードバック結果は領域アドバイザー間で共有を行い、進捗状況確認に活用した。なお、2020年度以降、新型コロナウイルス感染症 COVID-19 の感染拡大後は、領域参加者の感染防御を最優先とした。そのため、助言にかかわる面談の人数を制限し、また、オンラインで行うなどの工夫を行った。ただ、各大学・研究機関でのコロナ対応策により、研究活動が制限されたことも相まって、開催頻度等が感染拡大前より制限せざるを得なかったことは否めない。

初回サイトビジット

各チームについて研究開始2年目に行い進捗状況、課題の確認を実施した。その際に、アドバイザー2名程度が同行して、進捗状況を確認するとともに、課題が明確になるように議論を行った。

領域会議

各研究チームの進捗把握・研究成果の共有を目的として、研究総括、領域アドバイザー、および研究代表者の参加を必須、主たる共同研究者や研究参画者もできる限りの参加として原則年1回の開催を行った。領域会議での議論を次年度の研究計画書へ反映するようマネジメントを行った。

領域会議は、研究者間の情報交換の場という趣旨も含めて実施してきた。特に全チームが揃った領域開始4年目以降は、チーム間連携を促進するため、きっかけ作りとして、同一カテゴリチームによる討論を行うプログラムを設定した。5年目には、1細胞研究を取り巻く現状を振り返り、領域目標達成に向けた領域・各課題の目標の再確認を考慮したプログラムを実施した。2020年度以降は、新型コロナウイルス感染症の流行拡大により、領域会議の実開催が困難となったため、代替としてオンライン形式で開催し、各研究代表者の成果発表によって進捗のフォローアップに努めた。

2回目以降のサイトビジット

領域会議や研究報告書等の報告で進捗等に問題が認められるチームについては、随時サイトビジットあるいはJSTにて進捗検討会を実施し、研究の課題・方向性について助言を行った。新型コロナウイルス感染症の発生以降は多人数での現地訪問が困難になったため、

2020年度は研究総括のみ現地訪問してサイトビジットを実施し、さらに2021年度には更なる感染拡大を受け代替措置としてオンライン開催によって進捗把握と研究推進に努めた。2021年12月現在で、全チーム、合計31回のサイトビジットを実施した。

課題評価

2021年12月現在、全チームの課題中間・事後評価を終えている。課題中間・事後評価として纏められる評価結果及びコメント以外に、アドバイザーからのコメントを中心に纏めた総括フィードバックを行い、以後の研究の進め方について助言とした。

総括面談

採択直後に行うほか、検討会等で進捗に大きな課題が認められた場合、随時、アドバイザーと連携したうえで総括面談を実施し、解決方法、方針について指導を行った。ただ、2020年の新型コロナウイルス感染症の発生以降は、本活動の頻度を減らす必要が生じ、特にアドバイザーとの連携した活動が制限されたのは残念であった。

(2) 連携・協力の推進

① さきがけ研究者との連携

さきがけ1細胞領域の研究者との交流を積極的に行った。CREST、さきがけ研究者間での交流のきっかけのため、領域が開始した2014年度から3期生が揃う2016年までCREST・さきがけ交流会を実施した。以降は、さきがけ研究期間を終了した研究者がCREST領域会議に参加する形で交流の機会を設けた。これらを契機として、CRESTチームとさきがけ研究者間での連携が複数行われており、特に岡田チームでは、2017年度より、さきがけ1期採択の藤芳研究者が主たる共同研究者に加わり研究を進めた。

② 領域内連携

年1回実施する領域会議は、進捗確認とともに、チーム間での情報共有を目的として実施してきた。その結果として、チーム間での技術指導や技術連携が複数行われている。ただし、2020年の新型コロナウイルス感染症の発生以降は、オンラインになったため、積極的な連携指導が制限された。

③ 海外連携

Pacificchem2015のBio/chemical Approaches for Single Cell Technologiesのセッションで本研究領域の紹介を行った。また、シングルセルシンポジウム2017でも同様に本研究領域の紹介を行ったほか、チームからも研究報告を行った(吉野チーム、澤田チーム、馬場チーム、北森チーム他)。また、複数のチームでJSTの国際共同研究支援を活用し、技術開発に必要な情報の取得、あるいは開発した技術の普及、そのデファクトスタンダード化、

海外にネットワークを広げることを目的として、海外より研究者を招聘して検討を進めた。本活動についても、新型コロナのパンデミックが大きな影響を与え、連携はほぼ止まった。そのような中でも大川チームでは、開発したエピゲノム解析技術の普及を目指し、海外研究者への技術供与とトレーニングコースを企画し、コロナ禍の難しい状況下で、招聘をオンラインでのリモートトレーニング・ワークショップに切り替えて、その結果取得したデータの論文文化に取り組むなど、成果を上げた。

(3) 研究費配分上の工夫

領域の研究費の 1 割弱を総括裁量経費として確保し、年度ごとの状況に応じて配賦を行った。研究開始後の 2015～2017 年は装置・システム開発の立ち上げとして物品費増加を想定した額を確保し、状況に応じて増額を行った。2018 年度以降は、研究進捗に伴って以下の研究期間延長やグループ追加の支援のための配賦を行った。また、領域最終年度の 2021 年度には、本研究領域の成果の発信と普及を目指して、国際シンポジウムの開催を計画し、その開催費に総括裁量経費を充当する予定であったが、新型コロナウイルス感染症の影響を踏まえ、企画を縮小し、領域内で人数を限定した成果報告会を開催する方針で現在検討を進めている。

・吉野チームの研究期間の 1 年延長：

3.5 年の研究期間が終了した時点で課題事後評価を行い、POC を取るために、作製した装置・システムを用いた有効性を臨床検体で検討するよう指摘した。研究期間を 1 年間追加してさらなる検討が行われ、臨床検体の評価による一定の成果が得られた。

・岡田チームの藤芳グループ追加：

岡田チームの装置開発を促進するため、さきがけ研究で顕微鏡開発を進めていた藤芳研究者を岡田チームに加え、グループ追加のための研究費を支援した。

6. 研究領域としての戦略目標の達成状況について

本領域では、総括方針により論文発表より装置・システム作成に重点を置くことが推奨されているが、研究の進展に伴い、随時論文投稿も進められた。論文発表は 570 報(2021 年 12 月 1 日現在)であり、学術的に優れた研究成果が得られており、JST からのプレスリリースは 14 件行われた(2016 年：岡田チーム(前島グループ) 1 件、2017 年：岡田チーム(前島グループ) 2 件、大川チーム 1 件、2018 年：大川チーム 1 件、2019 年：石井チーム 1 件、岡田チーム(前島グループ、笹井グループ) 2 件、2020 年：澤田チーム(鍋倉グループ) 1 件、岡田チーム(前島グループ) 1 件、2021 年：石井チーム 1 件、大川チーム 3 件)。

装置・システム開発による科学技術イノベーション創出への貢献という点では、これまでに 76 件の国内・国際特許出願がなされている。

JST の成果展開活動支援を活用し、JST フェア 2018 出展(澤田チーム、橋本チーム、渡邊チーム)、2019 新技術説明会報告(渡邊チーム)、所属機関が非継承とした技術について知財性についての再検討後の JST からの特許出願(2018 年 12 月)の実施が行われた。

以下、これまでに特に優れた研究成果を挙げた研究課題について、開発している装置・システムの独自性、成果の具体的な内容と今後の見通しを記載する。

(1) 吉野チーム

血液中に循環している血中循環腫瘍細胞(Circulating Tumor Cell: CTC)は、がんの転移との関連が示唆されており、その遺伝子情報を解析することで、効果的な抗がん剤選択や創薬プロセスの加速化への応用が期待されている。

CTC を対象とした単一細胞分離技術は本研究課題の開始以降も徐々に開発が進められており、すでに血液からの CTC 濃縮から単一細胞分離までをサポートする技術も発表されている。一方で、これらの技術では CTC の濃縮に時間を要すること、濃縮された CTC と白血球の位置関係により単一細胞を分離できない場合があること、RNA の解析はサポートしないこと等の課題が残されている。それらの点で、本研究課題で開発を進めている東京農工大学の技術は迅速性・単一細胞分離の確実性や、RNA 解析に対応する点で類似研究に対する優位性を有している。

本研究課題では、CTC の核酸解析プラットフォームに必要な要素技術(CTC の濃縮、検出、分離、核酸増幅)を確立し、また、全トランスクリプトーム増幅にも成功した。構築した CTC 核酸解析プラットフォームを用いて、都立駒込病院をはじめとする臨床試料での検討を進め知見を得ることができた。さらに、細胞分離のハイスループット化と CTC 検出の精度の向上も達成できており、産業応用への道を検討している。日立化成グループでは、CTC 濃縮装置の臨床現場における利用検討として米国 MD-Anderson Cancer Center との共同研究で肺がん、乳がん各 200 例の臨床研究を実施し解析を進めている。また、開発した細胞回収や細胞分離・核酸分析の要素技術は CTC 以外にも応用が可能であり、環境微生物を対象として単

一細胞のゲノム増幅が可能であることを示しており、本技術を駿河湾の環境微生物解析に利用している。

本研究課題は 2018 年度で終了したが、CREST の成果をもとにした提案が、2018 年度 JST 未来社会創造事業「革新的な知や製品を創出する共通基盤システム・装置の実現」において採択されており、CTC の核酸情報に加え、細胞悪性度に関連する細胞変形能に着目した細胞プロファイリング技術の開発を進めている。さらに、2018 年度に東京農工大学で採択された JST 産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム (OPERA) 「光融合科学から創生する「命をつなぐ早期診断・予防技術」研究イニシアティブ」において、CTC の形態情報と核酸情報を統合解析した細胞診断技術の確立を目指した研究を展開している。

(2) 澤田チーム

本研究課題では LSI 技術により複数種類のイオンや神経伝達物質を非標識でリアルタイムに、そして高い時間分解能（空間解像度を $1\mu\text{m}$ 以下、時間分解能を 0.5 ミリ秒以下）で撮影できるバイオイメージセンサの実現によって、脳神経ネットワーク、特にシナプス間隙における複数種類の神経伝達物質を同時にそして高い空間分解能で網羅的に解析できる装置となることを目指した。

先行研究による報告では、LSI 技術を用いた細胞の活動電位の検討での空間解像度は、 $7\mu\text{m}$ である。また、神経伝達物質の 2 次元分布をリアルタイムに取得できる装置は実現できていない。近年、2 次元の水素イオン分布を撮影できるセンサアレイの開発が海外を中心に活発化しているが、神経伝達物質の 2 次元分布や同時に複数種類の物質を可視化するには至っていない。以上のような状況から、本研究課題で開発を目指すセンサは、空間解像度、時間分解能の点で新規性・優位性が高い。

開発を進めたセンサは、これまでにない分解能を有するマルチイオンセンサであり、従来観察できなかった現象を捉える可能性が高いことから、基礎研究への貢献とともに、様々な疾患情報に関するセンサとしてバイオ産業や診断領域への応用により、新産業創出が期待される。刺入型 *in vivo* センサは植物の茎中のイオンイメージングに成功しており、農学分野の研究者と連携し、植物診断計測技術への展開が図られている。 $2\mu\text{m}$ センサも、新型コロナウイルス感染症 COVID-19 のスパイクたんぱく質検出に成功し、PCR 検査と同等の検出感度を持つ簡易検査法として、実用化に向けた開発を進めている。また、浜松ホトニクスへ技術移転した 256×256 画素 $30\mu\text{m}$ ピッチのイオンイメージセンサを用いて、海外のバイオベンチャーによる共同研究を開始し、実用化研究に取り組んでいる。

本研究課題の成果は JST OPERA 事業に採択され、FS フェーズから本格実施フェーズに移行し、企業とともにコンソーシアムを組織して、実用化・事業化への取り組みを推進している。

(3) 高村チーム

本研究課題では、組織切片や、培養細胞ネットワーク等、2次元平面上にある、各1細胞の種類・状態、位置情報を把握して、複数の1細胞の mRNA や代謝物の分子情報を解析できるデバイスの開発を目指した。

その開発研究を進める過程で、開発目標として研究計画に記載されていなかったものの、デバイス作製の素工程に当たる、圧電材料の PZT (チタン酸ジルコン酸鉛) ペロブスカイト相を 450°C以下で成膜するプロセスの開発に成功した。PZT の成膜は、従来は 700°C以上の高温処理が必要であったため、微細化や集積化の妨げとなり、本課題の1細胞用デバイスの作製においても苦労していた素工程であった。450°C以下で成膜することで、シリコンデバイス等との集積化が容易になり、1細胞用デバイスの作製も進めることができた。もちろん、それ以外の素工程も様々あり、1細胞用のデバイス作製のために様々な改良をおこなった。

ただ、PZT は超音波画像診断装置やインクジェットプリンターヘッドはじめ、広く用いられる材料であり、今回の低温成膜技術で、一気に微細化、高性能化、低価格化が進むことが期待される。さらに、スマートフォン等の指静脈認証の高性能化・パネル埋め込み、タッチディスプレイの 3D ジェスチャー対応、ハプティクスデバイス (触った時の皮膚感覚 (ざらざら、すべすべ) をフィードバックするデバイス) 等への幅広い応用が見込まれている。

この成膜技術は三菱マテリアルと北陸先端大で共同出願、権利化され、既に三菱マテリアルがラインアップしている製品を用いて実現可能となっている。

(4) 岡田チーム

本研究課題では、ライブイメージングにより、NGS 法による 1細胞解析と比較可能なレベルでの細胞状態の *in situ* での経時的計測、それに基づく細胞状態の予測と操作を可能にする 1細胞解析技術開発を目指した。

本研究課題の提案以降、4D-nucleome project など、核のイメージングと遺伝子発現解析を組み合わせるといふ国際的な研究の潮流がある。しかし、イメージング用プローブ開発、イメージングのための顕微鏡等の装置開発、1細胞オミクス解析、理論解析・モデル計算などの要素技術の個別研究が主体である。

本研究課題では、個別の技術レベルが高く、技術開発からバイオロジー研究、理論解析まで包括的なパッケージとして推進している。その結果、プローブ開発 (ChrocodiLE 他)、バイオロジー研究 (クロマチン構造動態制御) や、ゲノム折り畳みモデルでも成果が得られている。このように、各個別研究レベルでの獨創性・新規性・先進性をベースに、これを有機的に組み合わせて包括的に研究を推進する点が、本研究課題の特徴である。

本研究課題で開発した新規プローブは JST から特許出願され、今後幅広い分野への応用が期待されている。また、本課題で開発した核内 1分子イメージング技術をベースに、ゲノム編集ツールの安全性評価というアプリケーションも開発され、特許出願中である。さらに、新型コロナウイルス感染症 COVID-19 に関する追加的研究の増額支援に採択され、本課題で

開発した RNA のイメージングおよび操作ツールの応用例として RNA ウイルスの検出と操作への展開にも着手している。

このような取組が評価され、2020 年度から岡田代表はムーンショット目標 2 の感染症課題(ウイルス-人体相互作用ネットワークの理解と制御)に課題推進者として採択されている。また、共同研究グループの前島リーダー(主たる共同研究者)は、本課題での研究成果を発展させ、2020 年度から学術変革領域 A「ゲノムモダリティ」に計画班代表として参画している。

(5) 馬場チーム

近年の次世代シーケンサーの技術革新に伴いゲノムおよびトランスクリプトーム情報は 1 細胞レベルで包括的に取得できるようになってきた。しかし、メタボロームおよびプロテオーム測定は、PCR のような観測対象物の増幅操作ができないため、細胞内に存在する分子をそのまま検出する必要がある。これまでの 1 細胞メタボローム解析は、アフリカツメガエルの初期胚(直径 1 mm) など細胞サイズが大きいものに限られており、さらに同定された代謝物は 40 種程度と情報量が少ない。一般的な動物細胞の 1 細胞メタボローム解析を実施するためには 100 万倍感度を向上させ、フェムトモル (1×10^{-15} mol) 以下の絶対感度が必要となる。また、プロテオミクス分野では、近年、ショットガンプロテオミクスにより 1000 タンパク質の同定に成功したことが報告されているが、動物 10 細胞を用いたものである。

本研究課題では、一般的な動物 1 細胞からのメタボローム解析およびプロテオーム解析を可能にするための技術の開発を実施してきた。その結果、アトモル (1×10^{-18} mol) レベルの絶対感度を有する解析システムの開発に成功し、HeLa 1 細胞から、100 種の代謝物(50 種のアミノ酸などの親水性代謝物および 50 種の脂質分子)あるいは 300 種のタンパク質(リボソームや細胞骨格タンパク質、一部の酵素など)の検出可能となった。さらに、迅速かつ高精度の細胞サンプリング・回収・サンプル調製技術の開発にも成功した。これらの技術を統合することにより世界最高感度での 1 細胞メタボローム・プロテオーム解析が実施可能なシステムを構築した。

現在、生物系研究者、臨床研究者や医師等と議論、連携して、試料調製や使い勝手、測定対象の検討を行い、実際の検体を用いてさらなる実用化に向けたシステムのブラッシュアップが実施されている。当該プロジェクトの成果をもとにチーム内の和泉自泰准教授を代表として JST 未来創造事業「共通基盤」領域探索研究に研究開発課題「1 細胞定量分子フェノタイプ解析に向けた微量試料自動前処理装置の開発」を提案し、採択されている。

(6) 大川チーム

本研究課題では 1 細胞レベルのエピゲノム解析技術を開発し、エピゲノム情報の中でも特に重要とされる、ゲノム上の転写因子の結合位置の同定、ヒストン修飾の分布の解析技術を開発し、細胞内のクロマチン構造から遺伝子発現制御情報を取得することを目指した。

ゲノムワイドなヒストン修飾状態や転写因子の結合の解析には ChIP-seq が広く用いられている。1 細胞解析で、ChIP-seq の応用としてドロップレットを用いた手法が報告されているが実用レベルには至っていない。その主な理由として、ChIP すなわち免疫沈降という方法自体が非常に非効率的であると考えられた。免疫沈降と異なる手法での検討も進められているが、その一つである Cut&Run はエピゲノム解析のためには 100 細胞程度を必要とし、非固定サンプルへの適用に限られるため転写因子やクロマチン修飾酵素等の解析が困難である。

これに対して本研究課題で開発した技術の ChIL (Harada et al. 2019 Nat Cell Biol) は、1 細胞レベルの解析に成功した。本法は、ヒストン修飾から転写因子まで様々な分子の解析が可能であり、加えてマウス、ヒトのみならず原核生物から植物まで多岐に渡っており、汎用的な技術として普及することを期待したい。

ChIL は九州大学から特許出願され、本年度特許が成立している。また既に国内外の検査会社や試薬会社にライセンスされ、プローブが販売されている。研究代表者は一般社団法人トランスクリプトミクス研究会を設立し、収益事業として ChIL プローブの OEM 供給などを行うことでライセンス事業を支援している。現在、ChIL の派生技術であるマルチ ChIL (Harada et al. 2020 Nat Protoc.) 用のプローブ供給も追加で開始されており順調な普及を示している。

(7) 民谷チーム

本研究課題では、免疫細胞を 1 細胞ずつ配置してその場で免疫機能のダイナミクスを捉えるためのマイクロ流体デバイスの開発と、それに基づく新規の臨床診断法の開発を目指した。

特に、腫瘍免疫における個々の病因・病態とその 1 細胞レベルの活性・機能を評価・理解するために、免疫細胞の攻撃能評価デバイスチップとして、1 細胞捕捉とバルブ遮閉分離による密閉が可能なチップを開発し、腫瘍攻撃の際に重要な Granzyme (GZMB) 活性を指標とする 1 細胞分泌因子活性評価に成功した。阪大医学部の臨床医グループと連携し、この 1 細胞デバイスを用いて、治療効果等の臨床情報と紐づいた免疫チェックポイント抗体治療患者の末梢血検体を用いた計測を行った結果、治療患者間における GZMB 活性差を見出すことができ、本デバイスを用いた計測手法が、免疫チェックポイント治療効果予測を実現するツールとなりうる可能性が示された。

さらに、本研究で細胞デバイスに利用する抗体を、酵母細胞表層工学技術によって生産する手法も確立し、バイオベンチャー (Barcodebody 社) の創業につなげるなど、医療・分析などの種々の方面への展開が期待されている。

(8) 二階堂チーム

本研究課題では、長期間に渡って増殖や分化を行う成体幹細胞の機能と命運を生体内で

捉える計測法の開発を目指した。そのためには、1細胞レベルの細胞機能を明らかにする計測技術とそのデータ解析手法の開発が必須であり、高精度かつ高出力の1細胞RNA-seq法であるQuartz-Seq2法(Sasagawa Y. et al. Genome Biol. 2018)と、非ポリA RNAも含めてRNAの完全長配列を明らかにできるRamDA-seq法(Hayashi T. et al. Nature Comm. 2018)が開発された。これらの1細胞RNA-seq法のデータを活かすべく、さまざまなデータ解析技術も開発されており、国内外の共同研究ですでに多くの成果が生み出されている。

Quartz-Seq2は、現在報告されている高出力な1細胞RNA-seq法のなかでは、もっとも検出遺伝子感度が高い技術である。Human Cell Atlasプロジェクトのなかで、1細胞RNA-seq法の国際的なベンチマークコンテストが行われ、世界中の産学の開発者が参加し13手法の比較が行われたが、Quartz-Seq2が世界最高性能であると示された(Mereu E. et al. Nature Biotech. 2020)。本技術の普及のため、ナレッジパレット株式会社を設立し、シリーズAで総額7億円以上の資金を調達するとともに、細胞計測分野で世界的な実験機器メーカーと装置化も進めている。Quartz-Seq2の医学分野への応用は、AMED脳とこころの研究推進プログラム(分担)、AMED再生医療実現拠点ネットワークプログラム、JST CREST「多細胞」研究領域(分担)、科研費学術変革(A)「適応回路センサス」(計画班分担)等に採択され取り組んでいる。

RamDA-seqは、非ポリA RNAも含めてRNAの完全長配列を明らかにできる世界初の1細胞RNA-seq技術であり、RNA配列に変異が起きる疾患等への応用が期待されている。特許は日本のみならず米国移行が完了し、欧州移行も進行中である。すでに東洋紡株式会社へのライセンスで1細胞RNA-seq試薬、qPCR試薬が国内外で発売され、がん診断薬のライセンス契約も準備中である。1細胞がんゲノム解析への応用や次期バージョンのRamDA-seqの開発を目指した研究は、JST CREST「バイオDX」研究領域、AMED次世代がん医療創生研究事業(分担)等に採択され研究開発が推進されている。

7. 総合所見

(1) 研究領域のマネジメント

医学生物学研究の進歩は、新しい方法論の開発によりもたらされることが多い。組み換え DNA 技術、単クローン抗体、トランスジェニック・KO マウス、PCR、iPS 細胞などノーベル賞の対象となった方法論は枚挙にいとまがない。ただ、日本においては開発された方法論を用いての医学・生物学現象の解明が、方法論の開発に比べより高く評価される傾向にあり、方法論の開発が活発とは言い難い状況にある。本研究領域では、このような状況に一石を投じるべく、1 細胞解析のための方法論の開発に主眼を置いた。参画者の方々には「論文はよいかから、使える技術を」と訴えた所以である。

近年、方法論の開発は、シーケンサー、質量分析、超解像顕微鏡、クライオ電子顕微鏡などで分かるように、医学・生物学の中で閉じているわけにはいかず、生命科学に加え、工学、情報学、有機化学などの多くの専門家と連携した集学的アプローチが必要になってきている。そこで、募集時には多分野の専門家からなるチームを募集した。また、領域アドバイザーの方々も多分野の方に参加していただき、特に、企業において研究機器の開発に関係されていた方々に参加をいただいた。

採択された研究課題は、多分野の専門家からなるとは言っても、研究代表者の専門によって一定の傾向を示した。工学系の研究代表者の場合は、シーズ重視型になることが多く、実際の研究現場で使いにくいものになる危険性が高かった。このような傾向はいち早く察知し、グループ内の生命系研究者の研究方向に対する発言権を増したり、新たな生命系研究者との連携を計ったりして修正を指導してきた。生命系の研究代表者の場合には、工学系機器の研究開発に必要な時間と費用の見積もりが不十分であることが多く、研究の開発に凸凹が生じやすい。この場合も、工学系の研究者の発言権を増す、新たな連携先探する等の修正を行ってきた。

こうした進捗検討、方向性の修正、連携先の発掘等では、課題研究者以上に多分野の知識が必要とされ、領域アドバイザーと密に連携して対応してきた。また、企業出身の領域アドバイザーのコメントは、対応のスピード感とその視野の広さでアカデミアの領域アドバイザーにはないものも多く、本研究領域では貴重であった。

また、領域中間評価において、①国内および海外へ研究成果の発信を増やすことで、実用化の促進がなされることを期待する、②知財戦略について、JST や各研究機関による更なるサポートを期待する、③より独創的な技術開発と実用化・普及の展開を期待している、とするコメントを頂いた。①については、従来からも、渡邊チームや大川チームが CREST の海外研究者の招へい及び国内研究者の海外派遣支援資金をいただき、IRIS 法や ChIL 法のノウハウを直接伝えて普及促進を行う試みを行った。②については、岡田チームが JST 知的財産マネジメント推進部の支援を利用している。③については、石井チームの細胞運動の実時間的情報処理、岡田チームのクロマチン動態の解析など生きたままの解析で独自性のある技術

が育ちつつある。

しかしながら、このような領域の研究マネジメントに大きな問題をもたらしたのが、2020年1月から始まった全世界的な新型コロナウイルス感染の拡大である。致死率は高くはないものの感染性が高く、治療もワクチンもないウイルスのパンデミックは、スペイン風邪以来であり、日本をはじめ各国の対応も手探りであった。日本では各自治体、各大学・研究所での対応が微妙に異なり、初期にはオンライン会議の設備やノウハウも組織ごとにバラバラであり、各研究室での研究も進度がぐっと落ちたが、それ以上に、研究チーム内外での連携が進めにくい状況になったのが残念であった。具体的には、別の組織に属する研究者の対面での打ち合わせや共同研究が阻害され、領域アドバイザーとともに頻回にサイトビジットをして多面的なアドバイスをする機会がぐっと制限された。この結果、個々の研究室を中心に行われている研究は各研究者の大変な努力で、ほぼ研究計画にそった成果が得られたものの、計画を超えて新しい分野間の連携を作り出す努力や、それらを製品化・上市することにつなげていく連携努力は満足できるレベルで行えなかった。ワクチンが普及し感染が収まった現在では、研究総括としては悔いの残ることであるが、当時はプロジェクト関係者に感染が広がらないことを最優先にマネジメントを心掛けざるを得なかった。

(2) 研究領域としての戦略目標の達成状況

戦略目標の達成については、項目の6で示したように、次の大型プロジェクトにつながったものや、すでに、キットや試薬あるいは機器として、上市されたものも存在する。これについては、領域設定時の予想を超えている面がある。当然ながら、技術的課題にぶつかり苦しんだチームもある。しかし、これこそが技術開発プロジェクトの本質であり、この困難を乗り越えるための工夫が技術のノウハウ部分に反映され競争力を維持する源泉となると考えている。本領域のような野心的なかつ具体的な目標設定の場合、目標の100%達成はありえないと考えている。本領域の現状を見ると、コロナ禍にもかかわらず、ほぼ7割の研究チームでPOCを達成したと考える。ただ、領域中間評価段階で達成を期待したチームが達成できず、そうでなかったチームが達成したという例も見られた。

(3) 本研究領域を設定したことの意義と妥当性(研究開始以前や中間評価時点と、終了時点の比較を念頭において)

項目1の「概要」に、1細胞解析意義を比較的詳しく記載したので、ここでは繰り返さない。本領域設定後から領域中間評価まで間の、1細胞解析の分野での最も注目すべき国際動向としては、Human Cell Atlas (HCA)プロジェクトが挙げられる。HCAは、ヒトの体を構成する約37兆個の細胞全ての分類と遺伝子発現の空間マッピングを目指す国際共同プロジェクトで、2017年秋よりPhase1が開始され、方法論の検討やサンプル採取法、データの纏め方のパイロット研究が進んでいた。領域中間評価時点では、Phase1で方法論が決まり次第、大規模データ取得のPhase2に進むとされていたが、2021年秋現在でもPhase2は始まって

いない。その理由は、コロナ禍もあるが、華々しく発表され、大いに期待された、“in-situ sequence”などの、イメージングを使った、位置情報を保持した状態での1細胞mRNA発現解析法の完成度が低く、大規模解析に向いていないという事情が大きい。

本研究領域では、HCA発足以前から、“in-situ sequence”などの技術動向を把握し、その一歩先を行く、位置情報を保持した状態での1細胞タンパク質発現解析法の開発をめざし、IRIS法というユニークな方法論を持つ渡邊チームなどを支援してきた。1細胞タンパク質発現解析法の開発は難しく、渡邊チームは、まだ、上市する試薬や機器の開発には至らなかったが、全てのタンパク質についてIRIS法に必要な特殊な抗体を分離する方法開発をコツコツと進め、完成直前にいる。また、二階堂チームのQuartz-Seq2法や大川チームのCHIL法など、HCAでも注目されている世界No1の技術もあり、HCAがphase2に突入する時期に至っても、日本の競争力が保持できる状況にあると考えている。

こうした状況は、HCAを見て、後追いで本領域のようなものを立ち上げて達成されなかったであろう。HCAに数年先駆けて戦略目標を定め、本研究領域を立ち上げた効果が出ているといえる。そして、こうしたことが可能であった背景には、2004～2005年ごろから始まった神原領域アドバイザーを中心とした1細胞解析に対する長年の取り組みが日本にあったことを忘れてはならない。

(4) 科学技術イノベーション創出に向けた、今後への期待、展望、課題

本研究領域の大きな課題は、本プロジェクトでPOCが取れた技術をどの様に広く使用してもらうかであった。最終的には上市されることが望ましいが、上市するとなると、開発技術の完成度を研究室レベルから1段高める必要がある、そのためには企業と密に連携する必要が出てくる。今回は、コロナ禍による制限でこの部分のマネジメントが十分にできなかったのが心残りである。特に、機器の開発となると、POCを得ても実機を作るまでにかかりの開発費が必要である。本研究領域では吉野チームが先行例となるが、企業連携と公的資金による研究開発支援を良いバランスで引き続き得ることが必要である。このような活動は、一義的には研究グループの責任となるが、アカデミアの研究者にとっては、論文作成が第一であり、企業との連携などは、無駄あるいはマイナス要因であることが多く、このため、機器開発や上市を目指した方法論の開発は、未経験かつ無関心の研究代表者も多い。そこで、本領域のような、技術開発を中核とする戦略目標では、従来の研究総括の出来る範囲を超えて、企業連携や広い意味での実用化促進について、製品化経験のある領域アドバイザーやJSTと連携をし、早いタイミングでアドバイスしていくことが必要であると考えている。

(5) 所感、その他

本研究領域では、1細胞解析の新しい方法論の開発を獲得目標に、「論文はよいから、使える技術を」といった極端なスローガンを掲げ、領域運営を行わせていただいた。領域アドバイザーの人選や研究チームの選抜も、そのような方針に沿って進めることができ、領域の

成果に大きく繋がったと考えている。これは研究総括が大きな権限と自由度を持つ CREST のシステムゆえに実現できたことであり、今後も CREST の強みとして維持していくべきと考える。

しかしながら、この CREST の強みが、逆に弱みに転嫁する場合もあることにも、注目する必要がある。本研究領域の場合、私は戦略目標設定時からかかわっており、領域の獲得目標を十分に理解していた。このような例は、必ずしも一般的ではなく、諸事情から戦略目標の設定に全くかかわりのない研究総括が選ばれる場合も多々存在する。このような場合には、領域の獲得目標が十分に意識されず、また、選ばれた研究総括の当該分野についての知識も十分でなく、その結果、領域目標の達成が難しいような研究体制が出来上がる場合がある。

科学技術の発展はセレンディピティに満ちているので、こうした領域が思いがけない成果を上げることもあり得るが、それをあらかじめ期待するのは、戦略目標の本来の意義を否定することに成る。したがって、文科省・JST は研究領域の獲得目標を十分に意識して、その目標に賛同し、当該分野を理解している研究総括を選ぶべきであると考ええる。

戦略目標設定時には、AI か量子コンピュータか再生医療かといった優劣を判断し難い、どれも重要な戦略目標候補の中で、その時点での緊急性、実現性、社会・産業への影響の大きさ、国際動向などを考慮して領域が選抜されるため、選ばれた戦略目標について、緊急性、実現性、社会・産業への影響の大きさ、国際動向などの認識は、文科省・JST にしっかり存在している。しかし、その戦略目標では、具体的に何が獲得目標であり、どのようにそれを達成すべきかという点についての認識は、文科省・JST では必ずしも明確ではないようにみえる。研究総括の選定にあたっては、研究者としての実績もさることながら、領域の獲得目標を明確化したうえで、その獲得目標に共感を示し、その当該分野の最新事情にかなり明るい研究総括を選ぶように体制を整備することが必要であると考ええる。

以上