

プログラム名：セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名：合田 圭介

プロジェクト名：統合システム開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 29 年度

研究開発課題名：

セレンディピターのための細胞計測技術および細胞分取技術の開発

研究開発機関名：

国立大学法人 東京大学

研究開発責任者

合田 圭介

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

ライフサイエンスにおける「砂浜から一粒の砂金」を高速・正確に発見・解析し、セレンディピティ（偶然で幸運な発見）を計画的に創出する革新的基盤技術を開発する。そのために、膨大な数の多種多様な細胞集団を1細胞の分解能で迅速・正確に複数のイメージングモダリティで画像取得・分析することで、稀少だが産業的・科学的に大きなインパクトを持つ細胞を発見し徹底的に解析する、夢の細胞検索エンジン「セレンディピター（計画的にセレンディピティを行う装置）」を開発する。従来技術である **Cell-Picking Microscopy** と **Fluorescence-Activated Cell Sorting** では高スループットかつ高精度に細胞を評価・分取することが出来ない。**Imaging Flow Cytometry** は高スループットで細胞の画像を取得することが出来るが、分取が出来ない。セレンディピターの開発にあたって、これらのトレードオフの克服が必要であることが、技術的課題として明確になっており、1細胞の情報量とスループットの積である **FOM (Figure of merit : 性能比)** を数桁高めることが本プログラムで達成すべき目標である。このため、当該年度は光学 **G**、流体 **G**、計算 **G** の3つのグループ体制で開発を進める。

・光学 **G**

光学 **G** の開発課題としては、①方式間で互換性のある統合光学システム的设计・構築、②計算 **G** の開発するリアルタイム信号処理システムとの接続、③流体 **G** の開発する細胞分取システムに正確な分取タイミングの情報を提供する細胞流速計測技術の確立、が挙げられる。当該年度は、上半期で上記①②③いずれも高い **FOM** を得るために十分なスループット(100 cells/s)での動作実証を行い、下半期で細胞の評価・分取を実現する。

・流体 **G**

流体 **G** の開発課題としては、①流体システムのセレンディピターへの統合と運用、②細胞分取システムのセレンディピターへの統合と運用、③細胞分取-解析間インターフェース技術の確立、とが挙げられる。当該年度は、細胞サンプルをマイクロ流体内で精密に制御して導入する流体制御システム、マイクロ流体チップおよびその保持機構、および細胞分取機構のセレンディピターへの導入とその検証および改善を行う。また名古屋大学および理化学研究所のメンバーが中心となって細胞分取-解析間インターフェース技術の開発が進められる予定である。

・計算 **G**

計算 **G** の開発課題としては、①セレンディピターで使用する各細胞計測技術に対応したリアルタイム処理可能な前処理装置の開発、②細胞同定処理に必要な処理時間制約を満たすデータ転送帯域幅と演算能力を備えた **All IP Network** と **FPGA** 解析ノードの開発、③ **FPGA** 解析ノードへの画像解析アルゴリズムの実装と性能評価方法の確立、④実証評価で使いやすいユーザインタフェースやデータ解析環境の確立、が挙げられる。当該年度は、各細胞計測技術の前処理装置をリアルタイム化し、複数の前処理装置から出力される画像データを統合してリアルタイム解析するシステムを構築する。さらに、構築したシステムにこれまで **Phase 1** で開発した画像解析アルゴリズムを実装し、細胞同定により分取信号をリアルタイムで分取装置に出力する情報システムを開発する。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

・光学 G

本年度は、前年度までに開発した超高速イメージング法である FIRE 法、VIFFI 法のそれぞれを別方式 (SRS 法) と同一のプラットフォームで動作させる統合光学システムを設計、構築した。また、FIRE 法を用いて計算 G のリアルタイム信号処理システムに接続するためのインターフェース部分を開発し、高い FOM を得るために十分なスループット (100 events/s) での動作を確認した。加えて、流体 G の開発する細胞分取システムに正確な分取タイミングの情報を提供する細胞流速計測光学系を上記 FIRE 法、VIFFI 法のそれぞれと同一のプラットフォームで動作するよう光学系を設計、構築した。

・流体 G

開発課題のうち①流体システムのセレンディピターへの統合と運用、および②細胞分取システムのセレンディピターへの統合と運用については、いずれも予定通り当該年度の上期には統合が完了し、その後は運用フェーズに移行した。運用フェーズでは細胞を用いた実証評価を行いつつ、必要な改修作業などを適宜行った。また③細胞分取-解析間インターフェース技術の確立については、名古屋大学および理化学研究所のメンバーが各々開発を進めた方式のほか、東京大学上村研究室が開発を進めた方式について、統合に向けた計画や評価などにおいて協力し、当該年度第 3 四半期末ごろまで各種方式の評価試験を実施して、開発完了を確認した。

・計算 G

本年度は、FIRE 法、SRS 法、VIFFI 法に対応したリアルタイム処理可能な前処理装置をそれぞれ開発し、このうち FIRE 法と SRS 法については統合光学システムと結合が完了して統合システムを構築した。細胞同定処理に必要な処理時間制約を満たすために、FPGA を用いた時間制御ユニットを開発し、リアルタイム制御を可能とした。データ処理については必要なデータ転送帯域幅と演算能力を備えた All IP Network と画像解析ノードを開発し、統合システムを構築した。この画像処理ノードに Convolutional Neural Network を実装して細胞同定により分取信号をリアルタイムで分取装置に出力する情報システムを開発した。また、セレンディピターのユーザインターフェース環境やデータ処理環境も開発している。

2-2 成果

・光学 G

本年度は、2-1 進捗状況で述べた通り、FIRE 法、VIFFI 法、SRS 法、細胞流速光学系が共存する統合光学システムの設計・構築と、リアルタイム信号処理システム接続のためのインターフェース構築を行い、FIRE 法により高い FOM を得るために十分なスループット (100 events/s) での計測、解析、分取の統合動作確認に成功した。

・流体 G

流体システムおよび細胞分取システムについては、セレンディピターに統合した状態で設計通りの性能で動作することを確認したほか、100 events/s 以上での分取実験での統合動作も確認した。細胞分取-解析間インターフェース技術についてはチップ法、遠心法、ピッキング法の 3 方式について開発および評価をそれぞれ行った。結論としては各手法によって一長一短があり細胞アプリによって使い分けるこ

とが望ましいが、その中で遠心法がスループットおよび収率の面で優れており、全体としてバランスのとれた特性で、もっとも汎用性、実用性が高いことが確認された。

・計算 G

本年度は、進捗状況で述べた通り FIRE 法、SRS 法、VIFFI 法に対応したリアルタイム処理可能な前処理装置をそれぞれ開発し、FIRE 法と SRS 法については統合光学システムと結合して統合システムを構築した。細胞同定処理に必要となる処理時間制約を満たすために、FPGA を用いた時間制御ユニットを開発し、リアルタイム制御を可能とした。この結果、細胞同定処理に必要となる時間制約を満たして分取信号を出力して、複数の実験対象の細胞について分取の統合動作を確認した。

2-3 新たな課題など

・光学 G

FIRE 法において、測定対象によっては撮像感度が不足し、解析に十分な感度が得られない場合があることがわかった。FIRE 法の撮像感度は視野範囲（細胞の流れと垂直方向）とトレードオフの関係があるため、当初設計よりも視野範囲を狭くすることで撮像感度を改善し、これに対応する。この際、細胞のフォーカシング性能によって視野範囲が不足する懸念が生じるため、測定する細胞種によっては視野範囲の調整を検討する。現状は流体システムのフォーカシング性能に見合った視野範囲の設定で概ね良好な感度が得られており、当面はこの設定で対応する。

・流体 G

細胞の分取実験においてコンタミネーションがしばしば発生しており課題となったので、作業環境や作業プロトコルの見直しを進めている。具体的には、送液システムで用いる部品の見直しおよび滅菌手順の検討、測定サンプルのプレパレーションの作業環境改善、分取サンプル回収時の環境および手順の検討などを実施している。

・計算 G

本年度は VIFFI 法の統合に関してはリアルタイム前処理装置の開発と、統合システム全体のリアルタイム制御方式のアップデートを進めており、まだ統合システムでの分取動作まで至っていない。引き続き、細胞計測技術の統合を進め、複数の細胞計測技術を用いたマルチモーダルイメージングによる分取の統合動作を目指す。また、細胞同定処理の処理時間が時間制約を満たさないことが処理内容によっては発生するため、引き続き処理性能の向上や同定処理の最適化に取り組む。

3. アウトリーチ活動報告

SPIE が主催する Photonics West BIOS において、平成 27 年度に立ち上げたカンファレンス「High-Speed Biomedical Imaging and Spectroscopy: Toward Big-Data Instrumentation and Management」を本年度も開催し、平成 29 年 2 月に世界各国の参加者とともに、セレンディピティの計画的創出で取り組んでいる技術テーマについて交流および意見交換を行った。

また、本年度はサイエンスアゴラの ImPACT ブースに当プログラムから出展を行った。主に小学生を対象に、顕微鏡で微生物を観察してスケッチするという体験型イベントを実施し、一般市民向けに当プログラムの研究を身近に感じる機会を提供した。

また、本プログラムの成果や進捗状況の紹介、本プログラムを推進しているメンバーの紹介などは

Facebook で情報発信をしており、最先端の科学研究成果を一般市民に向けて説明している。