

戦略的創造研究推進事業  
—チーム型研究(CREST)—

研究領域「統合 1 細胞解析のための  
革新的技術基盤」

研究領域中間評価用資料

研究総括：菅野 純夫

2019 年 2 月



## 目 次

1. 研究領域の概要 .....	1
(1) 戦略目標 .....	1
(2) 研究領域 .....	4
(3) 研究総括 .....	5
(4) 採択研究課題・研究費.....	5
2. 研究総括のねらい.....	7
3. 研究課題の選考について.....	7
4. 領域アドバイザーについて.....	10
5. 研究領域のマネジメントについて.....	11
6. 研究領域としての戦略目標の達成に向けた状況について.....	12
7. 総合所見 .....	16



## 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確立し、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確立する。

#### 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（平成23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（平成25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

国立研究開発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」（平成20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」(平成 21 年度～平成 25 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、平成 23 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、平成 24 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(平成 23 年 3 月)をとりまとめており、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（平成 25 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）

（発足時に作成。JST の HP より転記）

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

氏名 菅野 純夫

(東京医科歯科大学難治疾患研究所 非常勤講師)

(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 上段：中間評価時 下段：採択時（異動があった場合のみ記載）	研究課題	研究費*
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	409
	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/シングルナノイノベティブデバイス研究拠点・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	255
	本郷 裕一	東京工業大学生命理工学院・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	364
	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計測と操作	294
		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		
	橋本 真一	金沢大学大学院医薬保健総合研究科・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	275
金沢大学・医薬保健研究域医学系・特任教授				
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ピング	462	

	渡邊 直樹	京都大学大学院生命科学 科学研究科・教授	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	351
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	357
	民谷 栄一	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)	295
	二階堂 愛	理化学研究所・生命機能 科学研究センター・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	320
理化学研究所・情報基盤 センター・ユニットリー ダー				
			総研究費	4388

\*研究費：2018 年度上期までの実績額に 2018 年度下期以降の計画額を加算した金額

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ている。

①では、評価会等での議論や、期中の進捗状況に応じた各チームからの要望による増額、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、上記総括裁量経費に加え、戦略事業全体の予算状況に応じて研究加速の目的での増額支援や戦略事業による国際強化支援の活用による国際共同研究促進、さらに、JST の「出産・子育て・介護制度支援」を活用して、該当するチーム(渡邊チーム)に増額を行っている。

※総括裁量経費：領域総予算の中で 10%程度を留保し、総括の裁量で執行する予算としたもの。

※出産・子育て・介護制度支援：CREST 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

※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

## 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 1細胞解析（ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム）

カテゴリ 2：分離 1細胞解析（プロテオーム、メタボローム）

カテゴリ 3：位置情報保持

カテゴリ 4：網羅的・時系列解析システム

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。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が必要であり、研究期間終了までに、その観点での POC 取得を目指す。

## 3. 研究課題の選考について

総括のねらいに従って4つのカテゴリに分けて課題を募集し、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）

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す。

※激烈な競争を勝ち抜き、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。そのため、本カテゴリのみに分類される提案は、初年度のみ募集、期間を 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す。

### カテゴリ 3：位置情報保持

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期待する。

### カテゴリ 4：網羅的・時系列解析システム

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を

行う。

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期待する。

また、課題の提案に当たっては、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
- 2) 情報処理、情報解析の専門家・情報科学研究者
- 3) 企業

採択された課題は以下の通りである。

#### 平成 26 年度採択課題

- ・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 大学院工学系研究科)
- ・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 電気・電子情報工学系)
- ・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 マテリアルサイエンス研究科)
- ・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 大学院生命理工学研究科)
- ・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/東京農工大学大学院工学研究院)

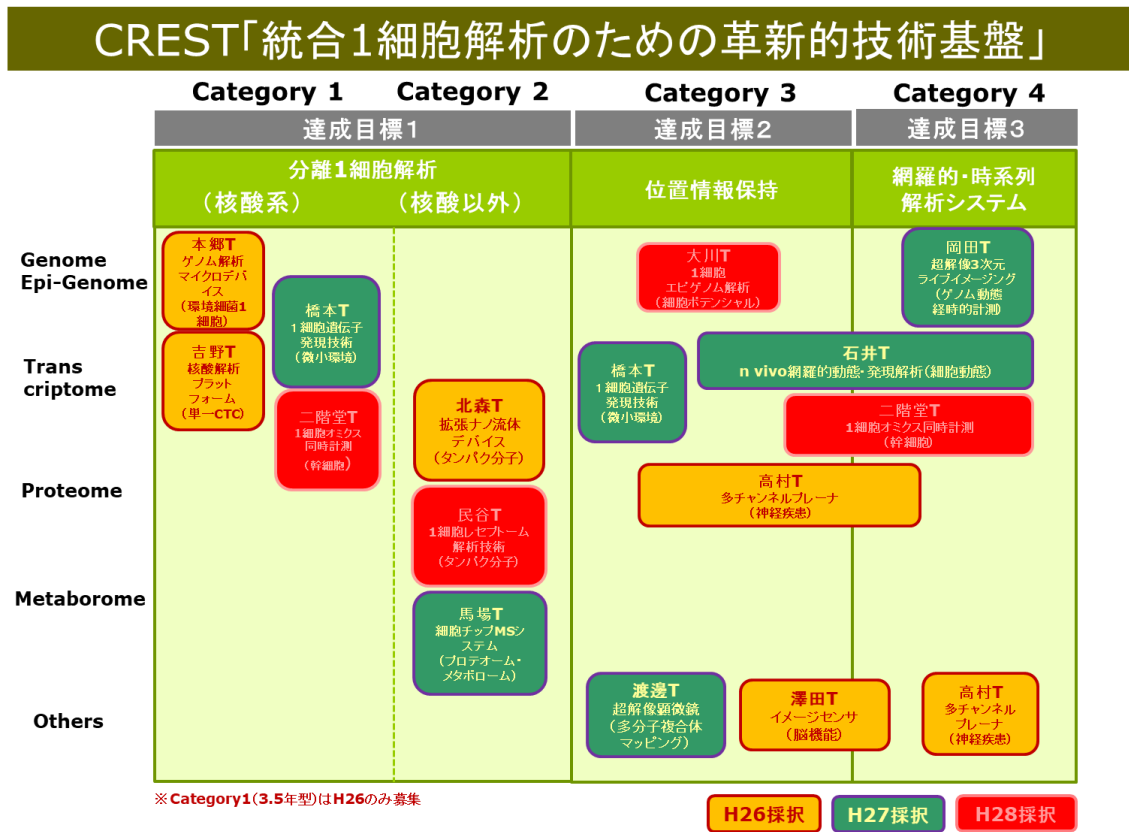
#### 平成 27 年度採択課題

- ・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 大学院生命機能研究科)
- ・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)
- ・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 医薬保健研究域・医学系)
- ・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 生体防御医学研究所)
- ・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 大学院生命科学研究科)

平成 28 年度採択課題

- ・細胞ポテンシャル測定システムの開発（大川 恭行/九州大学生体防御医学研究所）
- ・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/大阪大学大学院工学研究科）
- ・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）

募集時に申請されたカテゴリのみでなく、複数のカテゴリに属しているチームもあり、下の図のように分類される。



#### 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)	現在の所属	役職	任期
岡田 眞里子 (生化学、システム生物学)	大阪大学蛋白質研究所	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)	株式会社鎌倉テクノサイエンス	代表取締役社長	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先端医療開発センター	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	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 ライフサイエンス統合データベースセンター	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)	株式会社ヒューマノーム研究所	取締役	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 国際マスイメージングセンター／細胞分子解剖学講座	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	ビジネス企画室長	2014年10月～現在に至る

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、バイオインフォマティクス、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ている。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いる。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ている。

#### 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ている。その際に、アドバイザー2 名程度を同行して、進捗状況との確認と課題を明確にす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年 1 回開催している。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進めている。

領域会議では、研究者間の情報交換の場という趣旨も含めて実施している。さらに、全チームが揃って以降の 4 年目はチーム間連携のきっかけを促進するため、同一カテゴリチームによる討論を行うプログラムとし、5 年目では、1 細胞研究を取り巻く現状や領域、各課題の目標の再確認を考慮したプログラムとして開催した。

#### 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ている。2019 年 1 月現在で、全チーム、合計 31 回のサイトビジット、進捗検討会を実施した。

#### 課題評価

2019 年 1 月現在、2014 年度採択の 2 チームで課題事後評価、2014 年度および 2015 年度採択の 8 チームで課題中間評価が終了している。課題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っている。

#### 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、随時総括面談を実施し、解決方法、方針について指導を行っている。

### (2) 連携・協力の推進

さきがけ研究者：さきがけ1細胞領域の研究者との交流を行っている。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ている。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ている。

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。

海外：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うほか、チームからも報告を行っている（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ている。さらに今後、国際共同研究を行うことで、作製した装置・システムの実用性の確認とともに装置・システムの拡散を図る予定のチームもある。

### (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している。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、状況に応じて配賦した。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。

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に向けた状況について

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ている。論文発表は379報(2018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5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)。

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 58 件の国内・国際特許出願がなされている。

2014 年に採択した研究期間 3.5 年の 2 課題については課題事後評価が終了しており、また、中間評価は、2014 年度、2015 年度に採択した 8 研究課題分が終了している。いくつかのチームに対しては、今後、重点をおくべき研究課題を指定し、そこに焦点を絞ること、チームの編成を再考することなどの指導・助言を行った。

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 CREST 研究開始以降も徐々に開発が進められており、2018 年現在、血液からの CTC の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、産業応用への道が拓けてきている。日立化成グループでは、臨床現場における利用に向けた検討 (アメリカでの治験など) が実行継続されている。今後、より多くの臨床結果を蓄積して、CTC 解析の臨床的有用性を示すことを期待する。

開発した細胞回収や細胞分離・核酸分析の要素技術は CTC 以外にも応用が考えられ、環境微生物等においてゲノム増幅に成功しており、開発した要素技術の活用も期待される。

本研究課題は 2018 年度で終了となるが、これまで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、今後は CTC に着目した細胞プロファイリング技術の開発研究の展開

が期待される。

## (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を目指しており、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可能性がある。

これまでの報告では、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。

これまでの検討で、センサの解像度については 2  $\mu\text{m}$  を達成しており、刺入型 in vivo タイプのものについては、実際の測定が始まっている。また、神経伝達物質を対象とする複数のセンサが開発されており、全般的に当初の目標通りに検討が進んでいる。さらに、論文・特許や社会実装に向けた活動も行なわれている。センサシステムおよびセンサチップは企業へ技術移転を行い、領域内外の生物応用研究者に販売・サポートができるシステムを構築中である。

開発を進めているセンサは、これまでにない分解能を有するマルチイオンセンサーであり、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が考えられ、新産業創出を期待している。

## (3) 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 法による一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一細胞解析技術開発を目指している。

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、一細胞オミックス解析、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独創性・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。

今後、開発した技術の基礎生物学への応用検討を進めるとともに、共同研究も視野に入れて他のシーケンス手法との比較・融合を期待したい。また、研究者に手法を広める活動や開発した技術・システムの市場を得ることを目指した取り組みにも期待している。

#### (4) 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 ( $1 \times 10^{-15}$  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、開発したプロトタイプシステムを用いることで、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 100 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）の検出に成功した。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おおよそ目処が立っており、これらの技術を統合することで世界最高感度での超高感度の 1 細胞メタボローム・プロテオーム解析が実施できる見込みである。

今後は、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、実際の検体を用いた研究成果を期待したい。また、多くの研究者が使える環境を整えるような取り組みも期待している。

#### (5) 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ている。

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。その一つであるCut&Runはエピゲノム解析のためには100細胞程度を必要とする。

本研究課題で開発した技術のChIL(Harada et al. 2018 Nat Cell Biol)は、1細胞レベルの解析に成功した。

この技術の対象はマウス、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。

## (6) 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ている。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る。また、細胞の命運を追跡する細胞標識技術も必要となる。

これまでの検討で、1細胞レベルの細胞機能を明らかにする技術として、高精度かつ高出力の1細胞RNA-seq法であるQuartz-Seq2法と、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法の開発に成功した。前者は、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(2倍以上)技術である。現在、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ているが、アジア・オセアニア圏でQuartz-Seq2が唯一参加を許されている。また、RamDA-seqについては、非ポリA RNAも含めてRNAの完全長配列を明らかにできる1細胞RNA-seqは世界初である。

これら技術が、1細胞トランスクリプトーム解析技術のスタンダードとして普及することを期待する。

## 7. 総合所見

### (1) 研究領域のマネジメントと戦略目標の達成のに向けた状況

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、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したり、新たな連携先探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、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アドバイザーにはないものも多く、本領域では貴重であった。

なお、本領域では、知財の取得管理が重要だが、大学ごとに知財戦略なども異なり、多構成員から成るチームでどのように知財を確保するかで、種々の問題が生じる。この点に関しては、JST 知的財産マネジメント推進部によるサポートを活用している。

戦略目標の達成については、項目の6で示したように、すでに、いくつかの課題で成果が見られつつあり、その成果のなかには、キットや試薬として、すでに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でいるチームもある。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ものの、本領域の現状を見ると、POCの達成率は7割を超えるのではないかと期待している。

## (2) 本研究領域の意義、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

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、ブロード研究所(Broad Institute)のAviv博士の提唱の元、チャン・ザッカーバーグ・イニシアチヴ(Chan Zuckerberg Initiative)の支援を受けて開始されたヒトの体を構成する約37兆個の細胞全ての分類とマッピングを目指す国際共同プロジェクトである。サンガー研究所(Wellcome Trust and Sanger

Institute)、ブロード研究所(Broad Institute)、カロリンスカ研究所(Karolinska Institutet)とともに日本では理研が参加している。2017年秋より phase 1 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始まったところであり、1細胞研究は、この大きな世界的な流れを無視できない状況となっている。

HCA の phase1 に採択された研究と、本研究領域を比べると、目標としては本領域の方が広く、また難しい(位置情報保持、時系列解析)課題となっている。技術の進展は早いため、HCA の phase1 が終わるころには、本領域で目標とした技術のいくつかは、海外でも開発されるであろうことは想像に難くない。ただ本領域でも、大川チームの CHIL 法をはじめとして、従来の方法の延長上に無い発想で、課題に取り組んでいるグループがいくつかあり、海外で様々な方法が開発され、HCA が phase2 に突入する時期に至っても、競争力を保持している技術の開発が期待できる状況と考えている。

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、2004-5 年ごろから始まった神原アドバイザーらを中心とした 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。

本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る。最終的には上市されることが望ましいが、そのためには企業と密に連携する必要がある。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なりの開発費が必要である。本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未経験の場合も多い。そこで、本領域では企業連携や広い意味での実用化促進について、総括の出来る範囲をやや超えているものの、アドバイザーや JST とともに連携をし、タイミングを逃さぬ様に進めることが出来ればと考えている。

以上