

研究開発項目

1. 細胞内 CA に関する E³LSI の調査・検証

2023年度までの進捗状況

1. 概要

細胞内サイバネティック・アバター（以下細胞内 CA）の利用には、その技術的な安全性や公正性を担保することが必要不可欠です。

細胞内 CA の詳細な技術情報などの知財については厳重な管理がなされなくてはならないため、本研究課題では、E³LSI（倫理的、経済的、環境的、法的、社会的課題）の観点に基づいて実施された細胞内 CA の安全性評価についての情報を幅広く共有できる仕組みとセキュリティを確保した形での情報管理基盤を開発しています。

研究開発項目 1



細胞内 CA の E³LSI 課題の調査・検証

- (1-1) 細胞内 CA に関する E³LSI の調査および検証の実施
- (1-2) 細胞内 CA 開発促進のための情報基盤の構築と運用

1-1



Yamanishi, Y.
九大・山西陽子

1-2



Hijikata, A.
東薬大・土方 敦司

図 1-1 研究開発項目 1 の課題推進者

研究開発項目 2 から 6 の各研究によって実施された個々の実験データ等を散逸させることなく、セキュリティを確保しながら保存・管理・共有する仕組みを構築、研究開発項目の担当者間の速やかな情報共有と円滑な項目間の連携を実現します。

2. これまでの主な成果

【2022 年度】

E³LSI を専門とする、法務、科学技術社会論、生命・医療倫理等の有識者の人選を行いました。また、企業ヒアリングなどにより、細胞内 CA の製造、設計部分のコンソーシアムを立ち上げるための動向調査を行いました。

【2023 年度】

法務、科学技術社会論、生命・医療倫理等の有識者に、産業界のアドバイザーと共に E³LSI 検討委員会を設立しました。現在は、細胞内 CA の製造、設計部分のコンソーシアムを立ち上げるために、細胞内 CA の文献調査を行いました。また、他社特許調査による先行技術調査を行い、当該研究の新規性を明確にしました。

また、細胞内 CA の安全性評価についての情報を幅広く共有できる仕組みとセキュリティ確保を目的とする研究開発課題「1-2 細胞内 CA 開発促進のための情報基盤の構築と運用」を追加し、パブリックデータの収集およびデータベース化を行い、文献情報からの情報収集に最適なプロンプトを取得し、情報基盤の開発を進めました。

3. 今後の展開

E³LSI 検討部会を中心に、研究初期段階から細胞内 CA の利用に関する課題を研究者と共に考えていきます。また、討部会内に設置した産業化検討委員会が主導するコンソーシアムにて、実行的な経済的課題の解決方法を検証していきます。

細胞内 CA の安全性評価についての情報を幅広く共有できる仕組みとセキュリティを担保する情報基盤においては、データ駆動型細胞内 CA 設計システムが完成し、そのプロジェクト外への提供が開始されることを目指しています。

研究開発項目

2. 細胞内 CA の設計・構築

2023年度までの進捗状況

1. 概要

細胞内サイバネティック・アバター（以下細胞内 CA）の遠隔制御によって見守られる社会の実現には、（1）身体の不調の原因となる細胞を発見する機能、（2）発見した情報を増幅する機能（3）増幅した情報を体外で検出できるように情報を変換する機能、（4）原因の細胞を除去する機能、（5）機能を遠隔制御によって駆動・停止できるスイッチ経路、（6）CA 搭載細胞間あるいは CA 搭載細胞と体内の免疫細胞と連携・協調によって把握・改善を達成する仕組みが必要です。

本研究開発項目では、（2）（3）の情報（シグナル）機能の変換や増幅、（5）の細胞内 CA による強制停止（6）細胞内 CA を通じた細胞連携を中心とした仕組み重層的に研究開発課題を設定し、細胞内 CA の設計および構築という挑戦的な問題を解決します。

- 細胞内 CA が受けた情報（シグナル）を、別のシステムで読み取りが可能な人工物への変換および増幅機能の開発（2-1）
- 強制停止（中止）用細胞内 CA を開発（2-2、2-4、2-5）
- 遠隔制御および細胞内 CA 搭載細胞同士の連携の実現（2-1、2-2、2-3）

構築した細胞内 CA は、研究開発項目 5 により選定された細胞へ、研究開発項目 3 の技術で搭載され、研究開発項目 4・5・6 により評価されます。

研究開発項目 2



細胞内 CA の設計・構築

- （2-1）シグナル変換機能を有する細胞内 CA の開発
- （2-2）化合物ベースの細胞内 CA の開発
- （2-3）遺伝子ベースの細胞内 CA の開発
- （2-4）細胞膜チャネル様の細胞内 CA の開発
- （2-5）細胞内小器官様の細胞内 CA の開発



Yokomori, M.
九大・横森真麻



Dodo, K.
理研・関岡孝介



Sugano, S. S.
産総研・菅野茂夫



Shoji, K.
長岡技科大・庄司観



Tagawa, M.
名大・田川美穂

2. これまでの主な成果

研究開発項目 2 では、これまでに次の研究を行って参りました。

【2022 年度】

検査・除去・マーカー用細胞内 CA の設計のために、設計した細胞内 CA の機能を簡易的に評価する実験環境を整え、細胞内 CA のプロトタイプを設計する基礎を構築しました。

【2023 年度】

培養条件下で CA 搭載細胞の機能の開始・条件分岐・中止（強制停止）および、検査・除去という機能付与について、それぞれを行うための細胞内 CA を構築・評価しました。

3. 今後の展開

培養環境において、評価用のヒト・マウス血液から回収した免疫細胞に対して、細胞内 CA 搭載細胞間のコミュニケーションを担う細胞内 CA を 2 種類以上構築し、他の研究開発項目と連携することでその評価を行います。

加えて、CA 搭載細胞の安心・安全な利用のため、不測の事態に対応して CA 搭載細胞の強制停止を正確に実現できるように、複数の異なる原理による強制停止用の細胞内 CA を構築します。

研究開発項目

3. 細胞内 CA の搭載

2023年度までの進捗状況

1. 概要

細胞内サイバネティック・アバター（以下細胞内 CA）の技術の達成には、研究開発項目 2（細胞内 CA の設計・構築）で設計・構築された細胞内 CA の搭載方法を、研究開発項目 5（生体内における細胞内 CA の遠隔制御評価）にて選定される細胞種ごとに複数検討し、適した搭載方法を選択する必要があります。

本研究開発項目では、研究開発項目 2 で設計・構築した細胞内 CA を、研究開発項目 5 にて選定された細胞の細胞膜表面または細胞内部へ効率よく搭載するために、3 つの手法に着目して細胞内 CA の搭載技術を開発します。

- ・細胞への局所的な高効率搭載が期待される物理刺激を利用した搭載技術
(3-1)
- ・低侵襲な搭載が期待される細胞の嗜好性に基づいて設計したナノキャリアを利用した搭載技術
(3-2)
- ・細胞融合法を利用した複数の細胞内 CA の同時搭載技術
(3-3)

研究開発項目 3



細胞内 CA の搭載

- (3-1) 物理刺激を利用した細胞内 CA の搭載技術と生体内導入技術の開発
- (3-2) 細胞の嗜好性を利用した細胞内 CA の高効率搭載技術の開発
- (3-3) 細胞融合法を利用した細胞内 CA の高機能化技術の開発

3-1



Yamanishi, Y.
九大・山西陽子

3-2



Kimura, N.
農工大・木村笑

3-3



Tsubouchi, T.
基生研・坪内知美

図 3-1 研究開発項目 3 の課題推進者

2. これまでの主な成果

研究開発項目 3 では、細胞内 CA を細胞へ搭載して、検査細胞と除去細胞を作製し、また、標的のがん細胞・老化細胞に対して正確な検査・除去をサポートするためのマーカー分子を搭載するための技術を開発します。

これまでに次の研究を行って参りました。

【2022 年度】

各研究開発課題にて、搭載検討用の株化細胞を用いた培養条件下でのモデル分子搭載評価を開始しました。

【2023 年度】

各研究開発課題にて、培養条件下で細胞内 CA または細胞内 CA 相当の分子・構造体を搭載検討用のモデル細胞に対して搭載し、搭載後の細胞の生存率や状態の評価を行いました。また、開発した細胞内 CA の搭載技術の生体への適用性の評価を開始しました。

3. 今後の展開

培養環境において、評価用の株化免疫細胞または、ヒト・マウス血液から回収した免疫細胞に対して、3 つの搭載技術を選択的に適用することで、細胞内 CA を搭載し、開始・条件分岐・中止のいずれかの遠隔制御が確認できる CA 搭載細胞を作製していきます。細胞内 CA の搭載後の細胞の状態等は、画像解析、フローサイトメーター等の計測手法、RNA シーケンシング等により確認します。細胞内 CA の搭載効率および、搭載処理後の細胞状態の詳細な評価を行うことで、より安心・安全な細胞内 CA 搭載細胞の作製技術の開発を目指します。

また、3-1、3-2、3-3において、複数の細胞内 CA の搭載技術を検討することによって、今後、新たに開発され得る多種多様な細胞内 CA の搭載に対応できるような体制を整えます。さらに、搭載先の細胞の種類を加味して細胞内 CA の搭載技術の選択ができるような、細胞内 CA 搭載細胞の生産体制の構築を目指します。

研究開発項目

4. 培養環境における細胞内 CA の遠隔制御評価

2023年度までの進捗状況

1. 概要

研究開発項目2で設計・構築し、研究開発項目3で細胞に搭載した細胞内サイバネティック・アバター（以下細胞内 CA）が設計通りに動作するかを詳細に解析します。

研究開発項目 4



培養環境における細胞内 CA の遠隔制御評価

- (4-1) CA 搭載細胞の高速・高精度分取技術の開発
- (4-2) CA 搭載細胞の動態計測・分取プラットフォームの開発
- (4-3) CA 搭載細胞の遠隔制御性のモデル化技術の開発



図 4-1 研究開発項目 4 の課題推進者

一般に、細胞は機能・特徴に不均一性を有するため、CA 搭載細胞の時間依存的な細胞状態・遠隔制御性を詳細に評価・解析する必要があります。

本研究開発項目では、研究開発項目3で作製した CA 搭載細胞から、細胞レベルでの詳細な動態計測・評価を培養環境において行います。また、研究開発項目2で設計・構築した細胞内 CA により、研究開発項目3で作製した細胞の遠隔制御機能や、細胞の検査・除去に至る細胞内 CA の連携・協調の仕組みが設計通り制御されていることを、培養環境で細胞を分取して（4-1）オミクスデータの取得（4-2）・解析によって確認（4-3）します。

2. これまでの主な成果

細胞内 CA によって細胞に組み込んだ機能の遠隔制御を確認するために、一つ一つの細胞を自在に取り扱うマイクロ流体技術および細胞の様子を詳細に撮影するライブ顕微鏡技術、細胞の動態や細胞内の分子情報を解析・評価する技術を開発します。

【2022 年度】

細胞内 CA および搭載対象の細胞に対して、均質な細胞集団に選別・回収できるオンチップ技術（4-1）、形状や蛍光を使って CA 搭載細胞の活動を測定する顕微鏡技術（4-2）、顕微鏡動画や遺伝子発現データから CA 搭載細胞の機能のばらつきを把握・解析・予測する情報解析技術（4-3）の開発に着手しました。

【2023 年度】

蛍光の強度を指標に CA 搭載細胞を複数の集団に流し分けるオンチップ技術、および顕微鏡下で狙った細胞を自在に採取する 1 細胞ピペット技術を開発しました（4-1）。CA 搭載細胞の分泌などの活性を撮影するライブ顕微鏡を開発しました（4-2）。CA 搭載細胞の状態を顕微鏡画像から解析する深層学習モデル、およびトランスクリプトーム解析によって CA 搭載細胞の遺伝子発現を評価する技術の開発を進めました（4-3）。

3. 今後の展開

培養環境で、細胞内に CA を持つヒト・マウスの血液から回収した免疫細胞を対象にして、選別・回収（4-1）、機能の計測（4-2）、機能の解析（4-3）を統合したプラットフォームを確立し、CA を持つ細胞の機能を遠隔で詳しく制御できるかを評価する仕組みを開発します。この開発した仕組みは、今後、新たに開発される様々な細胞内 CA に対して、細胞内の分子が設計通りに制御できているか、または制御できなかった場合、その原因を評価するための基盤となり、細胞内 CA の精密な設計を可能にします。

研究開発項目

5. 生体内における細胞内 CA の遠隔制御評価

2023年度までの進捗状況

1. 概要

本研究開発項目では、細胞内サイバネティック・アバター（以下、細胞内 CA）を搭載する細胞やその標的となる細胞（以下、標的細胞）を選定し、選定した細胞や CA 搭載細胞をマウス検体またはヒト検体から効率よく抽出します。

CA 搭載細胞の作製や機能評価を行うために CA の搭載対象となる細胞や CA 搭載細胞の高効率抽出法を構築します（5-1）。

機能を遠隔制御によって駆動・停止できるスイッチ経路の研究開発を行う研究開発課題2-4（細胞膜チャネル様の細胞内 CA の開発）と共同で、生体外において細胞内 CA 搭載細胞（5-3）が標的細胞（5-2）に対して良好な機能制御性（検出・除去機能および機能停止）を有しているかそれぞれ評価し、細胞内 CA の設計・改良、細胞内 CA 搭載技術の検討・改良に取り組みます。

さらに、細胞内 CA 搭載細胞の機能制御性評価を動物実験でも実施します（5-2、5-3）。

研究開発項目 5



生体内における細胞内 CA の遠隔制御評価

- (5-1) CA 搭載細胞の抽出による生体情報取得技術の開発
- (5-2) 腫瘍・老化細胞を用いた細胞内 CA の遠隔制御性の体内評価
- (5-3) 免疫細胞を用いた細胞内 CA の遠隔制御性の体内評価

5-1



Tottori, N.
九大・鳥取直友

5-2



Takahashi, A.
がん研・高橋暁子

5-3



Yotsumoto, S.
東薬大・四元聡志

図 5-1 研究開発項目 5 の課題推進者

2. これまでの主な成果

本研究開発項目では、標的細胞に対して検査・除去する機能をもった細胞内 CA 搭載細胞（CA 搭載検査細胞および CA 搭載除去細胞）の作製に適した細胞を選定します。さらに、標的細胞は、CA 搭載検査細胞および CA 搭載除去細胞の標的となることが可能な細胞から選定する必要があります。そこで、本研究開発項目では、標的細胞は、がん細胞や老化細胞などから、CA 搭載細胞の作製に適した細胞は免疫細胞から選定します。さらに、各研究開発項目と共同で

生体外において作製した細胞内 CA 搭載細胞が標的細胞に対して良好な機能制御性（標的細胞の検出・除去および機能停止）を有しているか動作確認を行います。また、必要に応じて改良にも取り組みます。

研究開発項目 5 において、当該年度は以下の研究開発を実施しました。

【2022 年度】

標的細胞や細胞内 CA の搭載対象となる免疫細胞を各 1 種類以上選定し、CA 搭載細胞の機能制御性の評価のための実験系構築を開始しました（5-1、5-2、5-3）。

【2023 年度】

微量のヒト検体から目的細胞の高効率抽出に着手しました（5-1）。さらに、標的細胞に対する CA 搭載細胞の機能制御性を評価するための実験系を 2 種以上構築しました。また、CA 搭載細胞の機能制御性をより詳細に解析するために細胞動態計測・分取プラットフォームの導入と運用を開始しました（5-2、5-3）。

3. 今後の展開

作製した CA 搭載検査細胞および CA 搭載除去細胞が標的細胞を起点として想定した機能制御性を有するか、構築した実験系や細胞動態計測・分取プラットフォームを用いて評価を行います。この評価は、各研究開発項目と連携して進め、CA 搭載細胞がより安定した機能制御性を有するように必要に応じて改良し、将来的に個体内で機能することを目指します。

研究開発項目

6. 生体内模擬環境を利用した細胞内 CA の遠隔制御評価

2023年度までの進捗状況

1. 概要

細胞内サイバネティック・アバター（以下細胞内 CA）が、設計通りに動作するかを解析するために、本研究開発項目 6 では、3 次元的な生体模擬モデルを開発し、CA 搭載細胞の動態評価のための計測・評価システムを統合することで、CA 搭載細胞の評価プラットフォームを開発します。本研究開発項目で開発する実験動物を用いない CA 搭載細胞の評価技術は、研究開発項目 4 の培養環境評価、および、研究開発項目 5 の生体内評価と連携することで、ブラックボックスが内在する生体内評価に代わる定量的評価が可能となるだけでなく、実験動物の削減に資する技術となり、細胞内 CA 搭載技術の開発の短期間化に貢献できます。

研究開発項目 6



生体内模擬環境を利用した細胞内 CA の遠隔制御評価

- (6-1) 細胞内 CA の遠隔制御性評価のための 3 次元生体模擬モデルの開発
- (6-2) 細胞内 CA の遠隔制御性評価のための 3 次元評価プラットフォームの開発

6-1



Hayakawa, T.
中央大・早川健

6-2



Sakuma, S.
九大・佐久間臣耶

図 6-1 研究開発項目 6 の課題推進者

本研究開発項目では、6-1 で CA 搭載細胞の動態を集团的に評価できる 3 次元的な生体模擬モデルを開発し、6-2 で CA 搭載細胞を経時的に観察可能な環境制御技術を開発し、動態計測・評価システムと統合することで評価プラットフォームを開発します。

2. これまでの主な成果

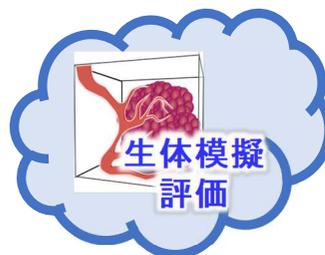
検査用または除去用細胞内 CA を搭載した免疫細胞が、マーカー用細胞内 CA を搭載した標的細胞を認識して、選択的に検査または除去する。この過程での開始・条件分岐・中止の遠隔制御を、3 次元的な生体模擬環境で評価するための培養環境または生体模擬環境で評価するための 3 次元的な生体模擬モデル、および、プラットフォームの開発を開始しました。

【2022 年】

実験動物を用いない CA 搭載細胞の相互作用・遠隔制御性の評価プラットフォームの開発を担当しました。3 次元評価プラットフォームの開発に必要な 3 次元生体模擬デバイスの部材選定・加工条件の検討を開始し、流体制御システム、細胞内 CA および CA 搭載細胞の投入システムの設計・試作に着手しました。

【2023 年】

生体模擬モデルの造形に着手し、モデル内で細胞を培養することで生存率等の生体適合性評価を行うとともに、3 次元生体模擬モデルを基盤とした 3 次元評価プラットフォームの基本機能の検証を行いました。



3. 今後の展開

3 次元生体模擬モデル内で、標的細胞を播種・培養し、細胞内 CA を搭載した検査用または除去用の細胞を導入することで、検査あるいは除去する過程の開始・条件分岐・中止の遠隔制御性を、観察・評価していきます。

具体的には、現在開発中の、本プロジェクトでターゲットとしている生体組織を模した 3 次元生体模擬モデルを開発し、評価プラットフォームを用いて CA 搭載細胞の評価を行います。また、これらの技術をプロジェクト内外に展開し、ユーザビリティや安定性などの向上を行い、プロジェクト全体を加速します。さらに、細胞内 CA および CA 搭載細胞の評価だけではなく、細胞内 CA や CA 搭載細胞の働きを見える化するデバイスの開発し、アウトリーチ活動などを通して情報発信を行います。

