

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H01801

研究課題名（和文）1細胞内のゲノム構造と転写活性制御を紐解くイメージ・シーケンス統合解析

研究課題名（英文）Integrated imaging and sequencing analysis to unravel the genome and transcriptional activation at the single-cell level

研究代表者

細川 正人（Hosokawa, Masahito）

早稲田大学・ナノ・ライフ創新研究機構・その他（招聘研究員）

研究者番号：60722981

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：1細胞単位で遺伝子の発現を解析する技術が普及し、データ蓄積が飛躍的に進んでいる。このなかで、次世代の解析法として必要とされるのは、細胞の多様性を生む原因と結果を知るための多階層の情報を統合的に解析する技術である。本研究では、(1)1細胞単位でゲノム中の遺伝子変異を解析する技術や、(2)組織観察像から任意の微小領域を選択し、微小組織を採集して抽出した微量な核酸から遺伝子発現やゲノム配列を解析し、組織中の領域情報と統合的に分析する技術を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した技術を用いることで、微小な組織内に存在する細胞における遺伝子の発現や遺伝子の変異などを解析できるようになった。これにより、生体組織の特定の領域に存在する細胞の役割を理解するための情報を取得できるようになった。凍結した組織標本だけでなく、ホルマリン固定した組織標本にも対応した試料調製プロトコルを開発したため、今後は幅広い試料への適用が期待できる。また1細胞単位でのゲノム解析技術も検証しており、組織から1細胞単位まで求める解像度に応じた解析を実施する要素技術を確立した。

研究成果の概要（英文）：As the technology to analyze gene expression at the single-cell levels becomes widespread, and data accumulation advances dramatically, what is needed as the next-generation analysis method is the technology to analyze multi-level information in an integrated manner to understand the cause and effect of cellular diversity. In this study, we developed a technology to analyze genomic mutations at the single-cell level and technology to extract micro-regions from tissue and analyze site-specific gene expression and genome sequence integrated with tissue regional information in the tissue.

研究分野：生物学

キーワード：シングルセル解析 ゲノム トランスクリプトーム マイクロ流体デバイス

1. 研究開始当初の背景

1 細胞レベルで遺伝子発現状況を網羅的に捉えるトランスクリプトーム解析技術が発展し、細胞個々の遺伝子発現の「不均質性」を知ることができるようになった。この表現型の多様性を生む要因として、エピジェネティックな遺伝子発現制御システムがある。真核細胞のクロマチン構造は動的に変化し(Deng et al., *PNAS* 2015)、転写因子が結合するときにはゲノムの一部が緩んだオープンクロマチン領域を作る(Buenronstro et al., *Nat. methods* 2013)。ところが、研究開始当初の手法ではオープンクロマチン領域の特定には、数万の細胞集団から抽出したゲノムが必要とされていた。このため、細胞の多様性を生む根幹となる「1細胞ごとの転写活性化状態の不均質性」の情報を知ることが困難であった。一方、現状の1細胞解析では転写産物の量的・質的情報を「結果」として捉えることができるが、なにがその不均質性が生んでいるのか?という「原因」を知り、因果関係を説明することはできない。まさに今、1細胞トランスクリプトーム研究が最盛期を迎え、データ蓄積が飛躍的に進むなかで、次世代の解析法として必要とされるのは、遺伝子発現の多様性や細胞分化の可塑性を生む「原因」と「結果」を統合的に理解する技術である。このためには、「細胞内でゲノムがどのような構造を持ち、そのときどの配列領域が転写活性化状態にあり、どれだけ転写物が作られているのか?」という多階層に結びついた情報を1細胞レベルで取得せねばならない。この課題に対して、代表者は、1細胞・微小組織レベルでゲノム・遺伝子発現を同時評価する技術の開発を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、細胞という1つの空間内で起きる遺伝子発現の「原因」と「結果」を同時に計測することを目指した。当初は、転写が活性化されているゲノム領域の同定や転写物の定量を1細胞レベルで網羅的に実行する要素技術を開発することを目的とした。当初計画では、細胞中のクロマチン高次構造をイメージで捉え、加えてシーケンスと統合することを想定したが、昨今の研究潮流や他グループの類似研究の動向等から判断して、ゲノムおよびトランスクリプトームのシーケンス解析に特化した技術開発に注力することとした。加えて、1細胞単位の計測を前提に研究開発に着手したが、生体組織の空間的な遺伝子発現解析が近年重要視されつつあることから、組織切片中の微小領域単位での解析を重点的に進めた。

具体的には、期間内に2つの技術開発に取り組んだ。はじめに、これまで研究代表者が開発してきたドロップレットデバイスを用いて真核細胞を1細胞レベルでドロップレットに封入し、ゲノムを網羅的に増幅し解析する手法の開発に着手した。もう一つは、微小組織領域における部位特異的な遺伝子発現を捉えるトランスクリプトーム解析技術の開発である。将来的にこれらの技術を統合して、1細胞および組織微小領域のイメージングとゲノム/トランスクリプトームを統合的にシーケンス解析する技術を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、上記目的の達成を目指し、3年間の研究期間中に、下記の技術開発と実証実験を行った。特に、研究代表者がこれまでに開発した、マイクロ流体デバイスを用いた1細胞ゲノム解析技術(Chijiwa et al. *Microbiome* 2020)や微小組織からのゲノム・トランスクリプトーム解析(Yoda et al. *Sci. Rep.* 2017)の改良を進めた。

(1) 1細胞ゲノム解析：ゲルドロップレットへの細胞・核の封入とMDA反応

サンプルとして、GM12878(ヒトリンパ芽球細胞)、ヒト肺がん細胞(H358, H1975, H1650)、あるいは各種細胞から核を抽出したものをを用いた。代表者が開発したSAG-gel法(Chijiwa et al. *Microbiome* 2020)に従い、PDMS(Poly(dimethylsiloxane))を用いてマイクロ流体デバイスを作製し、アガロース溶液に懸濁した細胞または核をデバイスに導入し、オイルでせん断することで、細胞または核を1粒子レベルでドロップレットへ封入した。その後、ドロップレットを冷却しゲル化させたのち、オイル層のゲルドロップレットを水層に置換した。細胞溶解試薬にゲルを懸濁し、ゲル内の細胞/核の溶解とゲノムDNAの一本鎖化を行った。その後、全ゲノム増幅用のMultiple displacement amplification(MDA)試薬を加え、30°Cで反応させた。最後に、ゲルドロップレットを一つずつ分取し、再度MDAを行った。その後、DNA定量および1-22番染色体上の遺伝子を標的としたqPCRを行い、増幅バイアスを評価した。

(2) 1細胞ゲノム解析：1細胞ゲノム増幅物からの遺伝子変異検出

EGFR遺伝子のex 19-21領域に遺伝子変異を持つ上記3種類のヒト肺がん細胞(H358, H1975, H1650)をモデル細胞とし、3種を混合したサンプルを調製した。前述の方法にて1細胞ゲノム増幅物を調製した。その後、EGFR遺伝子中の3変異(E746-A750del, T790M, L858R)を標的としたPCRを行った。アガロースゲル電気泳動により遺伝子の欠失変異を、サンガーシーケンス法により塩基置換を検出した。

(3) 組織トランスクリプトーム解析：RNA 分解を抑制する生体組織の脱水固定

マウスの凍結組織から薄切した厚さ 10 μm の切片を解析に使用した。脱水固定法として、エタノール固定、及び風乾固定の 2 種類を評価した。エタノール固定では、クライオフィルムに転写した切片を、99.5%エタノールに 10 秒間浸漬した。風乾固定では、切片をフレームスライドに転写し冷風を 5 分間当てた。脱水固定を施した 2 種切片と薄切後室温に 30 分間静置した未固定の切片から、市販キット (RNeasy mini kit, QIAGEN) を用いて RNA 抽出を行った。抽出した RNA は、電気泳動により分解度を評価した。RNA-seq を行い、遺伝子発現プロファイルや検出遺伝子数、転写配列の読み取り率を評価した。

(4) 組織トランスクリプトーム解析：Oligo-dT 磁気ビーズを使用した微小組織からの mRNA 抽出

サンプルとして、エタノール固定を施したマウス凍結組織切片を使用した。代表者らが開発してきた微小組織採取装置 (Yoda et al. Sci. Rep. 2017) を使用して、直径約 100 μm の微小組織を組織切片から採取した。続いて、タンパク質分解酵素を用いた細胞溶解及び oligo dT 磁気ビーズを使用した mRNA の精製を行なった。精製した mRNA を用いて RNA-seq を行い、検出遺伝子数や転写配列の読み取り率を評価した。

(5) 組織トランスクリプトーム解析：微小組織からの mRNA 及び DNA の同時抽出

サンプルとして、マウス肝臓の微小組織を使用した。タンパク質分解酵素で細胞溶解後、微小組織溶解液から mRNA、DNA の順で同時抽出を行なった。Oligo-dT 磁気ビーズを使用し、mRNA とその他の細胞構成成分に分画した。続いて、mRNA は Oligo-dT 磁気ビーズによる精製を進め、mRNA 以外の細胞成分を含む溶液はカルボキシル基磁気ビーズにより精製した。精製した mRNA は RNA-seq を行い、精製した DNA は、全ゲノム増幅後シーケンスを行い配列情報を取得した。

4. 研究成果

(1) 1 細胞ゲノム解析：ゲルドロップレット内での 1 細胞ゲノム増幅

MDA 反応後に蛍光 DNA インターカレーターで標識することで、ゲル内部に高輝度領域を確認でき、増幅 DNA の存在が示唆された。この DNA 増幅陽性ドロップレットは、細胞封入比率 (10%) と同様の比率で存在し、細胞溶解につづく DNA 増幅が実行されていることが確認できた (図 1)。

(2) 1 細胞ゲノム解析：ゲノム増幅産物の分取と増幅バイアス評価

全ゲノム増幅後のゲルドロップレットを分取し、再 MDA の後に定量した。DNA 増幅陽性ドロップレットからは平均 5000 ng の DNA が得られ、DNA 増幅陰性ドロップレットの 500 倍程度であり、ゲルドロップレット間のクロスコンタミネーション等がなく、選択的に 1 細胞増幅ゲノムが得られていることが示された (図 1)。また、同産物から 22 本の染色体上の遺伝子座を標的として qPCR を行い、増幅バイアスの評価を行った。ゲルドロップレット内部で 1 次増幅を行ったものは、直接 1 細胞をチューブに分取して得た 1 細胞ゲノム増幅物に比べて、増幅バイアスを抑制できていることが示された (図 2)。微小なゲルドロップレット内部で DNA が保持された状態でゲノム増幅が開始・進行し、ゲル外で生じた副産物が洗浄によって取り除かれることが、バイアス低減につながったものと考えられた。

(3) 1 細胞ゲノム解析：核封入ゲルドロップレット MDA と FACS 分取

FACS で分取可能なサイズとして 30 μm に粒径を設定し、細胞核を封入して MDA 反応を行うプロセスを検証した。本ゲルドロップレットを FACS で分取し、二次増幅の後に定量した結果、全反応の 91% で 1000 ng 以上の収量を得ており、十分な増幅が生じていることを確認した。

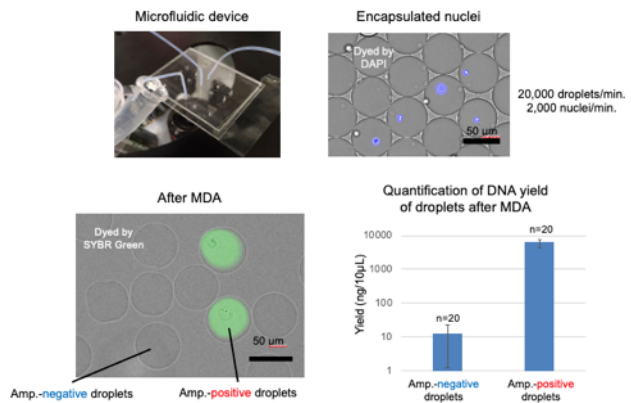


図 1 ゲルドロップレット内部での 1 細胞ゲノム増幅 (左上)マイクロ流体デバイス、(右上)ドロップレット内部に捉えた細胞核、(左下)ゲノム増幅後のゲルドロップレット (緑色が増幅ゲノム)、(右下)ゲルドロップレットから得られた増幅物収量の比較

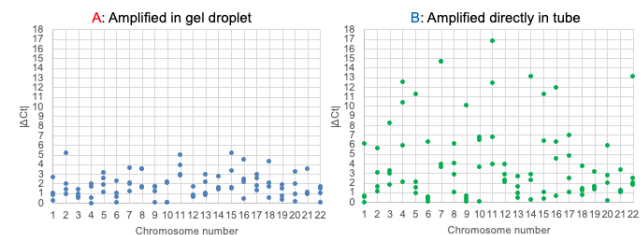


図 2 1 細胞ゲノム増幅バイアスの評価 各染色体上の任意の遺伝子座を標的とし、qPCR での基準サンプルとの Ct 値差を評価. A: ゲルドロップレット内増幅、B: チューブ内増幅

(4) 1 細胞ゲノム解析：1 細胞レベルでのヒト肺癌細胞遺伝子変異検出

3 種類の肺癌細胞を混合したサンプルから、96 個の 1 細胞全ゲノム増幅産物を得た。各細胞の EGFR 遺伝子上の変異を評価したところ、想定通り全てのサンプルが 3 タイプの変異のいずれかに分類された(図 3)。以上より、ゲルドロップレット MDA を介した 1 細胞レベルでの遺伝子変異検出が実行可能であることが示された。

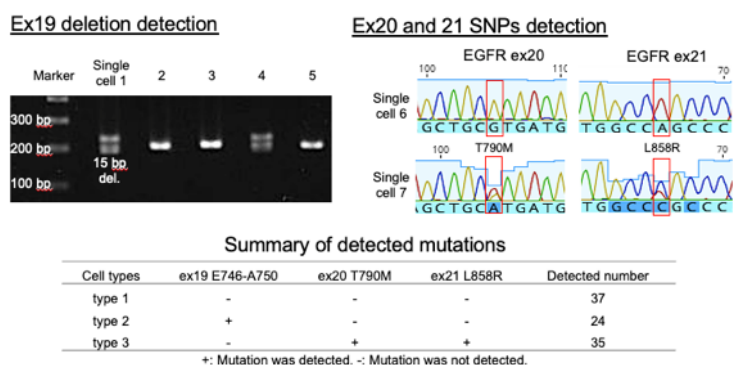


図 3 ヒト肺癌細胞 1 細胞ゲノム増幅物からの EGFR 遺伝子変異検出 (左上) E746-A750del の評価、(右上) T790M, L858R の評価、(下) 混合サンプル中の各変異細胞の検出数

(5) 組織トランスクリプトーム解析：RNA 分解を防ぐ組織固定法の評価

マウス肝臓凍結組織切片に脱水固定(エタノール固定もしくは風乾固定)を行い、室温に 30 分静置後 RNA を抽出した。未固定で 30 分静置した切片では、RNA の断片化が認められた。一方、脱水固定を施した切片では断片化は認められず、電気泳動結果から S18、S28 rRNA のピークが検出された。各切片から取得した遺伝子発現プロファイルと比較すると、コントロールとの相関係数は、未固定の組織で 0.46、脱水固定組織で 0.94 を示した。以上の結果から、脱水固定が切片作製後の時間経過による RNA 分解を抑制し、生体組織本来の遺伝子発現情報を保持できることが確認できた。

(6) 組織トランスクリプトーム解析：微小組織片からの微量 RNA 精製法の評価

マウス肝臓凍結組織切片から採取した 16 個の微小組織片を評価に使用した。タンパク質分解酵素による組織溶解及び磁気ビーズを使用した mRNA 精製を加えたプロトコル(PP)、もしくは、上記抽出・精製を伴わない従来プロトコル(TN)の 2 つの処理を行った後 RNA-seq を行い、遺伝子発現情報を取得した。両データを比較した結果、PP でより多くの遺伝子(7329±522)が検出された(TN :5932±1122) (図 4 a)。また、遺伝子発現解析で検出対象としているエキソン配列の検出率は、TN (67.8±10.8%)と比較して PP (88.8±1.3%)で高い値を示した。以上より、新規手法(PP)は効率的に微小組織からエキソン領域を含む poly(A) RNA を高精度に分画できることが確認された(図 4 b)。

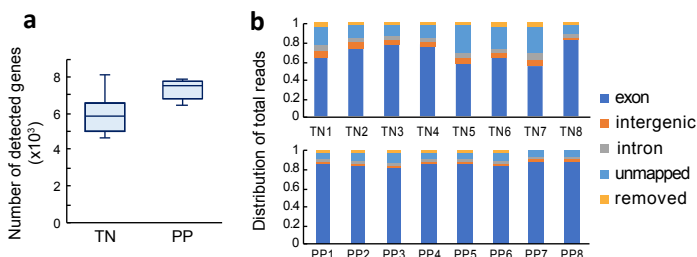


図 4 微小組織片からの微量 RNA 精製法の比較 a: RNA-seq における検出遺伝子数の比較、b: シーケンスリードの由来(リファレンスゲノムへマッピングした結果)

(7) 組織トランスクリプトーム解析：マウス脳の空間的遺伝子発現解析

マウスの脳凍結組織切片から、直線的に微小組織を採取した。PP プロトコルを用いて各微小組織の RNA-seq を行い、遺伝子発現情報を取得した。各微小組織は 3 つの遺伝子の発現変動により、大脳核 (CN)、大脳皮質 (CTX)、および脳梁 (CC) の各領域に分類された(図 5)。CTX 内の発現変動遺伝子を確認すると、*in situ* hybridization 結果と同様に CTX 各層ごとに変動の異なる 6 つの遺伝子が特定された。CTX 内の変動遺伝子は、従来法(TN)では検出されない遺伝子が含まれており、空間的遺伝子発現解析における新規手法(PP)の有

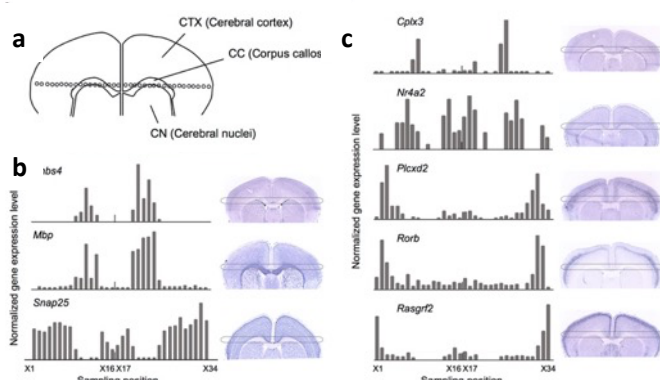


図 5 マウス脳組織片における局所領域の遺伝子発現 (a) マウス脳内の採取ポイント、(b) 各マイクロダイセクションポイントにおける CTX, CC, CN 特異的遺伝子の発現量分布、(c) 各マイクロダイセクションにおける前頭前野層特異的遺伝子の発現量分布

用性が示された。

(8)組織トランスクリプトーム解析：微小組織片のトランスクリプトーム及びゲノム解析

マウス肝臓凍結組織切片から4個の微小組織を採取し、mRNAとDNAを同時抽出した。mRNAからcDNAライブラリを、DNAから全ゲノム増幅産物を調製し、それぞれシーケンスを行い配列情報を取得した。cDNAライブラリから検出された配列は、エクソンが77.3±2.7%を占めていた。一方、全ゲノム増幅産物では、エクソン領域(5.0±0.1%)、イントロン領域(37.6±0.4%)、インタージェニック領域(48.5±0.3%)の比率がcDNAライブラリと異なり、ゲノム上に含まれる各領域の比率と同様の値を示した(図6)。

続いて、FFPE組織標本からの解析を検討した。マウス肝臓FFPE標本から微小組織を採取し、磁気ビーズによるRNA抽出を行なった後、その残渣に異なる条件で熱処理を行い、抽出DNAから得られる全ゲノム増幅産物の量を比較した。磁気ビーズによるDNA精製を行う前に、DNAの脱架橋処理として90°C5分の熱処理を加えることで、シーケンスで解読可能な量の全ゲノム増幅産物が取得可能となった。精製したDNAをMDAまたはPCRベースの方法で全ゲノム増幅し、Miseqにより配列情報を取得した。両者の比較として、MDAは、ランダムプライマーとエラー挿入率の低いPhi29ポリメラーゼを使用し、連続的に伸長反応を行うため、凍結組織標本において低い増幅バイアスでゲノム情報を取得できることを期待した。一方、PCRベースの全ゲノム増幅は、フラグメンテーションで均一な長さに断片化したのち各断片の増幅を行うため、既にDNAの断片化が見られるFFPE標本において増幅バイアスの低下を期待した。実際のデータから、ゲノム全長におけるカバレッジの偏りを評価したところ、PCR増幅産物は、コントロールであるBulk sample(切片1枚から抽出したDNA)と同様の分布を示し、MDA産物はBulkサンプルに比べて大きな偏りが見られた。PCRをベースとした全ゲノム増幅では、FFPE微小組織から凍結組織と同程度の低い増幅バイアスで処理を実施し、ゲノム解析に移行できることが示唆された。

以上より、磁気ビーズを用いた核酸精製プロトコルを最適化することで、凍結標本およびFFPE標本どちらにおいても微小組織片からmRNA及びDNAを分画することができ、同一組織からゲノム変異と遺伝子発現を同時解析することが実施可能となった。本手法を利用し、病理組織標本からイメージをもとに領域を選定し、続いて領域特異的な変異解析や遺伝子発現解析を実施することへと現在展開している。

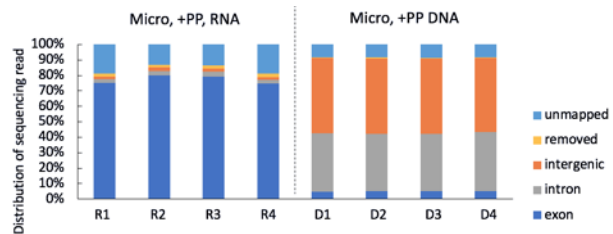


図6 微小組織からのゲノム・トランスクリプトーム同時解析

4つの微小領域において、RNA(左)、DNA(右)を個別にシーケンス。シーケンスリードの由来(リファレンスゲノムへマッピングした結果)を表示

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ohshima Toshio, Sugeno Ayaka, Piao Wenhui, Yamazaki Miki, Takahashi Kiyofumi, Arikawa Koji, Matsunaga Hiroko, Hosokawa Masahito, Tominaga Daisuke, Goshima Yoshio, Takeyama Haruko	4. 巻 16
2. 論文標題 Cortical transcriptome analysis after spinal cord injury reveals the regenerative mechanism of central nervous system in CRMP2 knock-in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neural Regeneration Research	6. 最初と最後の頁 1258 ~ 1258
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4103/1673-5374.301035	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 Arikawa Koji, Ide Keigo, Kogawa Masato, Saeki Tatusya, Yoda Takuya, Endoh Taruho, Matsuhashi Ayumi, Takeyama Haruko, Hosokawa Masahito	4. 巻 -
2. 論文標題 Recovery of high-quality assembled genomes via metagenome binning guided with single-cell amplified genomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.01.11.425816	査読の有無 無
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 Chijiwa Rieka, Hosokawa Masahito, Kogawa Masato, Nishikawa Yohei, Ide Keigo, Sakanashi Chikako, Takahashi Kai, Takeyama Haruko	4. 巻 8
2. 論文標題 Single-cell genomics of uncultured bacteria reveals dietary fiber responders in the mouse gut microbiota	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiome	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40168-019-0779-2	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 Yamazaki Miki, Hosokawa Masahito, Arikawa Koji, Takahashi Kiyofumi, Sakanashi Chikako, Yoda Takuya, Matsunaga Hiroko, Takeyama Haruko	4. 巻 10
2. 論文標題 Effective microtissue RNA extraction coupled with Smart-seq2 for reproducible and robust spatial transcriptome analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-63495-6	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 Nishikawa Yohei, Kogawa Masato, Hosokawa Masahito, Mineta Katsuhiko, Takahashi Kai, Sakanashi Chikako, Behzad Hayedeh, Gojobori Takashi, Takeyama Haruko	4. 巻 -
2. 論文標題 Massively parallel single-cell genome sequencing enables high-resolution analysis of soil and marine microbiome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.03.05.962001	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 シングルセルゲノミクスで未培養細菌ゲノムを網羅解析
3. 学会等名 蛋白研セミナー：オミクス解析における実験と数理の協働 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 シングルセルゲノム解析が変革する海洋微生物研究
3. 学会等名 生物工学Webシンポジウム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 1細胞ゲノミクスによるデータ駆動型の生物工学研究
3. 学会等名 生物工学フォーラム「情報解析が切り拓く創薬・生物工学研究の新展開」 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎美輝、松永浩子、細川正人、有川浩司、坂梨千佳子、鈴木直子、竹山春子
2. 発表標題 効率的な微量生体分子抽出法を用いた微小組織のゲノム解析及び遺伝子発現解析
3. 学会等名 第14回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 メタゲノムのその先へ-シングルセルゲノム網羅解析-
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 細川 正人、西川 洋平、小川 雅人、千々岩 樹佳、井手 圭吾、有川 浩司、竹山 春子
2. 発表標題 大規模シングルセルゲノム解析技術を駆使した環境微生物の多様性の理解
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 マイクロバイオーム研究への大規模1細胞ゲノムシーケンスの活用
3. 学会等名 京都バイオ計測センター・京都大学ナノハブ拠点連携シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川 正人、西川 洋平、小川 雅人、千々岩 樹佳、井手 圭吾、有川 浩司、竹山 春子
2. 発表標題 シングルセルゲノムレベルでのマイクロバイオーム解析
3. 学会等名 シングルセルゲノミクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 組織内の細胞多様性を明らかにする超並列ゲノム解析技術の創成
3. 学会等名 JACI/JST交流セミナー さきがけ「ライフイノベーション」分野 若手研究者との集い(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 微生物ゲノム1細胞解析技術の開発と社会実装への挑戦
3. 学会等名 NFM15周年記念シンポジウム「大学発の『知』社会実装」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahito Hosokawa
2. 発表標題 Single-cell genome sequencing with droplet microfluidics
3. 学会等名 Joint meeting of the 10th International Forum on Post-Genomic Technology (IFPT '10) and the 11th International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis (IWSC '11)" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masahito Hosokawa
2. 発表標題 Obtaining high-quality draft genomes from uncultured microbes by single-cell genome sequencing with droplet microfluidics
3. 学会等名 Frontiers in Rhizosphere Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masahito Hosokawa
2. 発表標題 Obtaining high-quality draft genomes from uncultured microbes by single-cell genome sequencing
3. 学会等名 The International symposium organized by Platform for Advanced Genome Science -FRONTIERS OF GENOME SCIENCE- (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masahito Hosokawa
2. 発表標題 Analysis of uncultured microbes by single-cell genome sequencing with microfluidics
3. 学会等名 12th International workshop on approaches to single cell analysis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 細川正人
2. 発表標題 シングルセルゲノミクスによる新しい微生物機能探索アプローチ
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析化学シンポジウム (BMAS2018) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 海、細川 正人、西川 洋平、小川 雅人、竹山 春子
2. 発表標題 微小液滴を用いた1細胞単位での遺伝子変異解析法の開発
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎美輝、細川正人、松永浩子、有川浩司、高橋清文、坂梨千佳子、竹山春子
2. 発表標題 微小組織からの効率的なRNA抽出と遺伝子発現解析
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 竹山 春子、細川 正人	4. 発行年 2020年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 200
3. 書名 シングルセル解析でなにがわかるか	

1. 著者名 菅野 純夫（編集） 細川正人、小川雅人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 128
3. 書名 医学のあゆみ 1細胞解析-技術と応用 「1細胞ゲノム解析で多様な細菌叢を捉える」	

1. 著者名 細川正人、小川雅人、竹山春子 (分担執筆) (渡辺 亮、鈴木 穰 編)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 219
3. 書名 実験医学増刊 Vol.37 No.20 シングルセルゲノミクス	

1. 著者名 細川正人、西川洋平	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 258
3. 書名 バイオイノベーションに向けて バイオテクノロジーの新技术からの新しい視点(バイオテクノロジーシリーズ) 植田 充美(監修) マイクロ流体デバイスによる微量生体分子計測の展開の項	

〔産業財産権〕

〔その他〕

早稲田大学 プレスリリース https://www.waseda.jp/top/news/68124

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

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
---------	---------