

推薦の言葉

フローサイトメトリー：過去，現在，そして未来

フローサイトメトリーは最も強力で広く利用されているバイオテクノロジー技術の1つである。過去50年間にわたり、フローサイトメトリーは哺乳類の免疫システムを理解するための我々の解析能力に変革をもたらした。最近では、例えば海洋バイオームの幅広さ・複雑性の理解といった広範な生物学の研究分野でも不可欠の技術となっている。医科学領域では、疾患の診断や、再移植治療のための幹細胞の単離などに用いられている。また治療に必要な理想的な抗体産生の目的で、単一細胞から何百キログラムものモノクローナル抗体を産生することができるB細胞を単離するためにも、中心的な役割を果たしている。加えて染色体、ウイルス、細菌、真核細胞、さらには多細胞生物まるごとのソーティングにも用いられている。

このように広い研究で活用されているのは、細胞集団の不均一性の決定、興味対象の細胞を生きたまま単離するといった基礎研究のニーズをフローサイトメトリーが解決しうるからである。1秒間あたり100,000細胞に迫るスピードで、30以上のパラメータを用いることにより、個々の細胞を定量し特性を明らかにすることができるという唯一無二の能力で、フローサイトメトリーはその貢献を果たしてきた。

蛍光を活用したセルソーティング（fluorescence-activated cell sorting：FACS）は1960年代後半にHerzenberg研究室で誕生した。10年以上にわたり、フルオレセインやローダミンなどの有機蛍光色素—T細胞とB細胞の表現型を区別するのに用いられるようになった2色の系—に依存していた。その後数十年間、蛍光色素の進歩は、ハードウェアおよびソフトウェア技術の進歩と相まって、フローサイトメトリーの限界を押し広げ続けた。フィコエリスリン（PE）やアロフィコシアニン（APC）といったタンパク質蛍光色素が加わることで、1細胞あたりわずか数百分子レベルの非常に高感度な検出が可能となった。最初の共鳴エネルギー移動（RET）色素であるPE-Cy5により、多くの免疫学者は4色を用いる系を使用できるようになったが、これは同時にマルチレーザー補正の最初の現実的な頭痛の種ともなった。1990年代に入ると有機蛍光色素やRETタンデム色素が急増し、先進的な研究室では12色系が使えるようになった。21世紀には以下に述べるように蛍光タグ技術が指数関数的に増加した。珍しいスペクトル属性をもつ量子ドットにより6色が追加されたが、その数年後にはさらに多機能なポリマー色素（およびRETタンデム）に取って代われ、30色の系が可能となった。さらに最近、調整可能な蛍光色素（例：Phitons）や、デスクトップマシンで利用可能なスペクトルフローサイトメトリーの登場により、個々の細胞で50色を測定可能となった。このような進歩は20年前には想像すらできなかったものだ。しかしこれでもまだ限界には達していない。各モノクローナル抗体に固有のDNAタグが結合したものを用いるCITE-seqにより、シングルセルシーケンシングと組み合わせることで、解析対象の全細胞のプロテオーム（およびトランスクリプトーム）を実質的には無制限に解析できるよう

になった。

このようなマルチパラメータ解析の発展により、各データセットに特有に求められるデータ解析技術のニーズも飛躍的に高まっている。数百万個の細胞を解析できる技術と、その各々に数十から数百の測定を組み合わせることは、この領域に特有の課題である。このような複雑なデータセットはもはや人間の脳では処理できない。そのため、さまざまなデータ探索解析アルゴリズムが強く求められている。そのなかにはクラスタリング（例：FlowSOM）や次元圧縮（例：tSNE）といった技術が含まれる。しかしこれまでのアルゴリズムは、我々がもつ生物学的な知見（例えば分化に応じた特定の細胞種の関係性など）を利用せずに実装されており、それによりさらに膨大な情報を解析に付加することもできるだろう。同様に、このようなデータのプレゼンテーションは、印刷物であれセミナー発表であれ、非常に困難になっている。科学的に厳密な表現、および第三者が解析を再現するのに十分な情報の提供は、ハイインパクトなジャーナルの論文ですら未だ行われているとは言い難い。ジャーナルからの文字数削減の要求や、セミナーでの発表時間の制約が、解析手法が必要とする詳しい説明と相容れないのだ。このように複雑なデータセットの再現可能な解析・プレゼンテーション・出版を可能にするツールが、今日のフローサイトメトリーにおいて最も必要とされている。

フローサイトメトリーは成熟した技術と考えられているかもしれないが、実際には今でも大きなイノベーションが起きている。フローサイトメトリーの未来にはどのようなことが可能となっているだろうか？もし1秒あたり100万個以上の細胞をソーティングできるようになれば、臨床分野・生物学分野ともに研究室に変革をもたらすだろう。そのような技術は、各々が1秒あたり数千の細胞をソーティングできるチャンネルを多く並列させた微小流路技術により可能となるだろう。微小流路プラットフォームの利点は数多くある。例えば疑わしい細胞やダブレット細胞を再ソーティングできる。またソーティング前に細胞をイメージングできるチャンバーに細胞を輸送できる。さらに100%の純度と100%の取率を両立できる。この技術により、全血からわずか5～10分で、純粋な異なる血球成分にすべて分離できるだろう。シングルセルゲノミクスとトランスクリプトミクスの統合も日常的なものとなるだろう。もちろん作成されるデータ量は今日の量を大きく上回るだろうから、新たな解析やプレゼンテーションのアルゴリズムはさらに重要となってくる。

本書の各章は、未来の技術発展をしっかりと念頭に置いて編集されている。フローサイトメトリーを、成熟した不変の技術とみなしてはならない。実際、フローサイトメトリーは直近20年間において、それ以前の30年間よりも大きく進歩している。フローサイトメトリーの未来は間違いなく明るいのだ。

米国国立衛生研究所国立アレルギー・感染症研究所
免疫技術セクション チーフ

Mario Roederer

(翻訳：山本拓也)