

微生物に特化したシングルセルゲノム解析 ～未知の解明から産業応用へ～

bitBiome株式会社 / bit-MAP®ご紹介資料





bitBiome Inc. – Who we are

早稲田大学発、18年11月創業の
バイオテックベンチャー



早稲田大学
WASEDA University

世界初の“微生物のシングルセルゲノム
解析技術” bit-MAP®を用い、
パートナー企業/研究機関とともに、
至るところに存在する微生物を解析



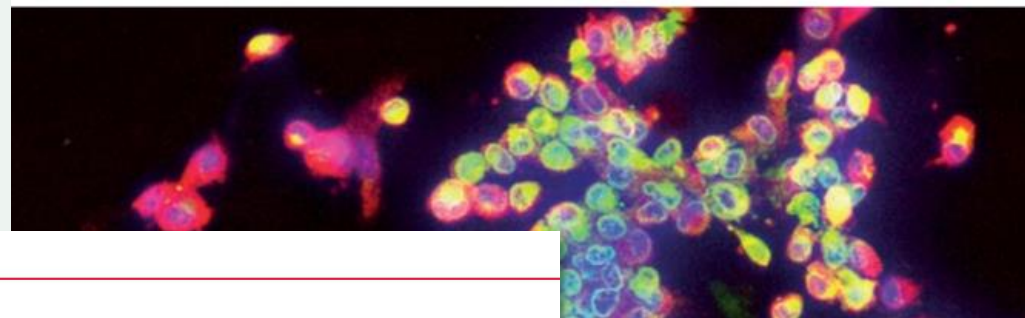
bitBiome

Source: illumina社、QIAGEN社 webサイト

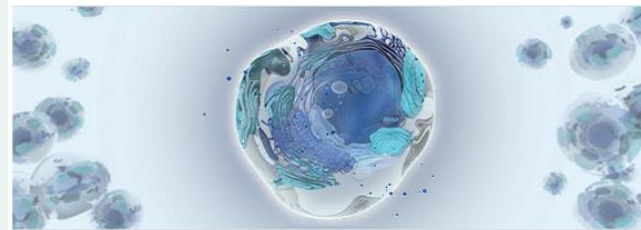
Illumina(イルミナ)社

Single-Cell Research

An Overview of Recent Single-Cell Research Publications Featuring Illumina® Technology



Could droplet microfluidics be a game-changer
for single-cell sequencing?



ゲノム解析業界の
リーディング
カンパニーも
我々の技術に着目

微生物には莫大な未利用資源としての価値が眠っている



微生物由来製品の
市場規模 (global)



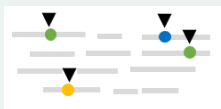
弊社のbit-MAP[®]は、従来手法の課題を解決した、 シングルセルゲノム解析による次世代型マイクロバイーム解析手法

従来手法

古典的な
単離培養/解析



メタ16S rRNA
解析



ショットガン
メタゲノム解析



課題

微生物ごとの**培養条件確立**
が困難な上、確立後も
培養管理コストが膨大

微生物の種類/系統の
構成比は分かるが、
機能を解析できない

微生物叢全体の遺伝子を
あわせて解析するため、
**ある遺伝子がどの微生物
由来か精緻に理解できない**

bitBiomeの技術 “bit-MAP[®]”



培養自体が不要



個体の全ゲノム情報から
機能解析できる



微生物 1 個体ごとに単離する
ため、遺伝子と微生物の
対応関係を精緻に解析可能

bit-MAP®のプロセス



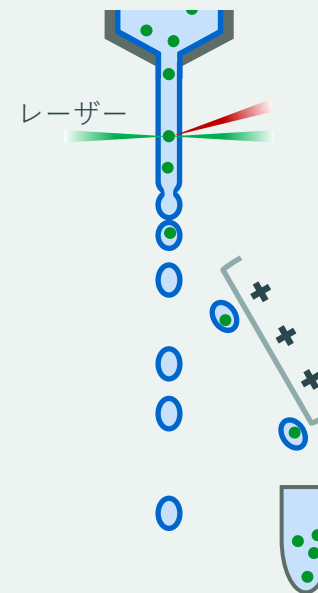
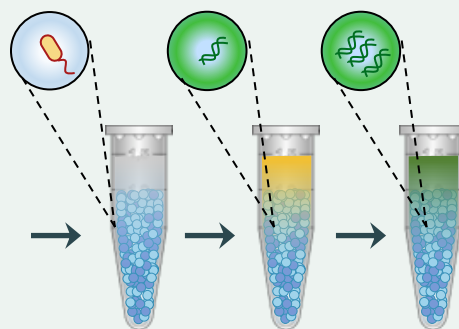
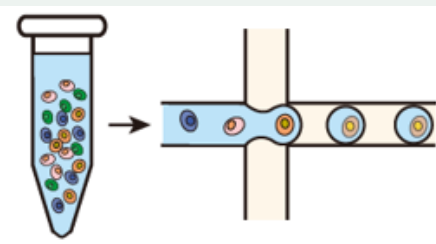
皮膚・糞便・土壌等
から微生物群を
収集・調製

微生物 1 個体を
1つのゲルカプセル
(ドロップレット)に
封じ込み

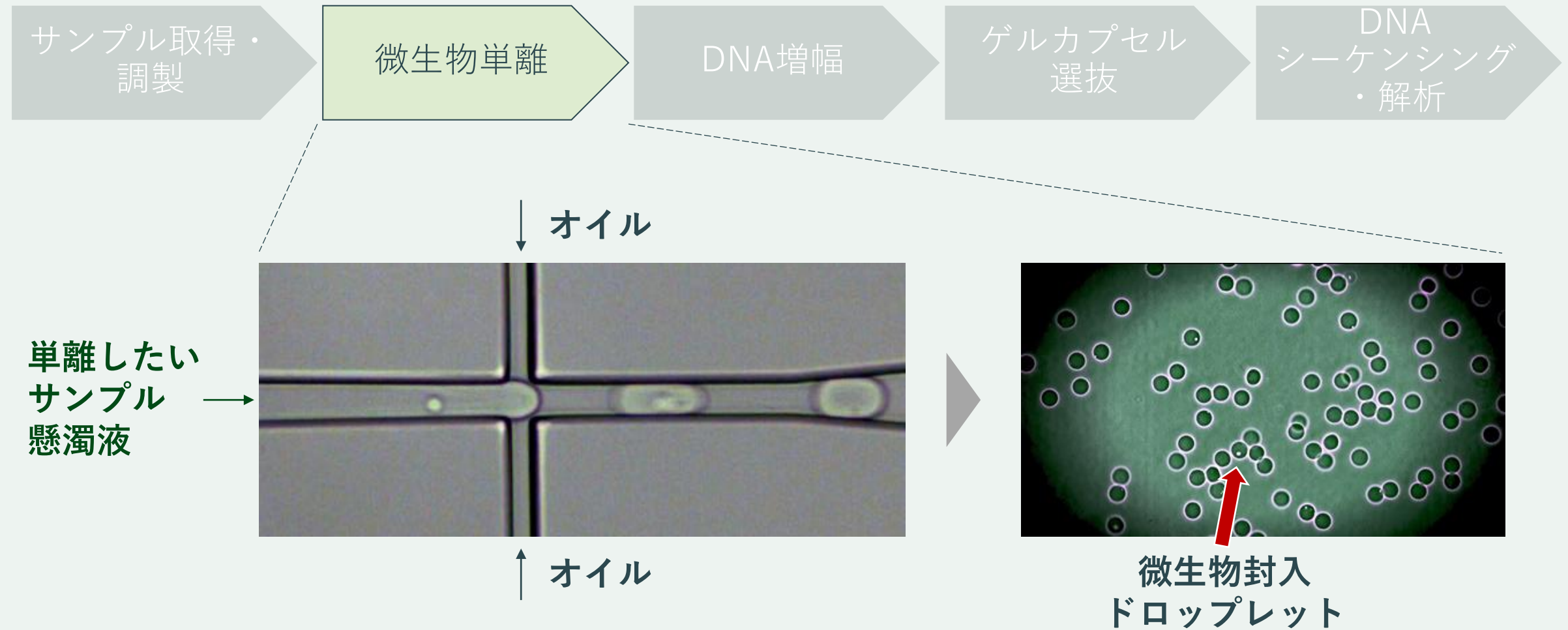
ゲルカプセル内で
溶菌・DNA増幅等の
操作・反応をシーム
レスに実施

微生物のDNA入りの
カプセルのみを
光らせて選り分け

次世代シーケンサー
でDNA配列を読み、
コンピューター上で
ゲノム配列を解析

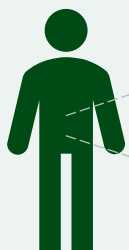


マイクロ流体デバイスを用いたハイスループット微生物単離

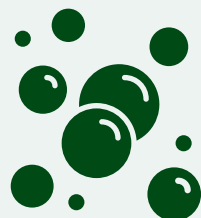


参考) 基本プロトコル: 1 検体あたり384シングルセルを解析

1 検体



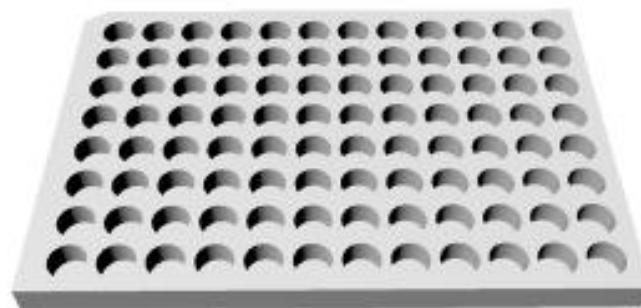
微生物叢



単離・
DNA増幅等



微生物384個体のゲノムを解析
(384ウェルプレートを使用)



- 各ウェルには、単離・DNA増幅が確認された「1微生物由来のDNAサンプル」
- 同種の微生物が異なるウェルに含まれることにより、384個体の解析結果の一部が重複する場合も存在（優先種など）

解析レポート



ゲノム配列データ



等
(プランに
応じて)

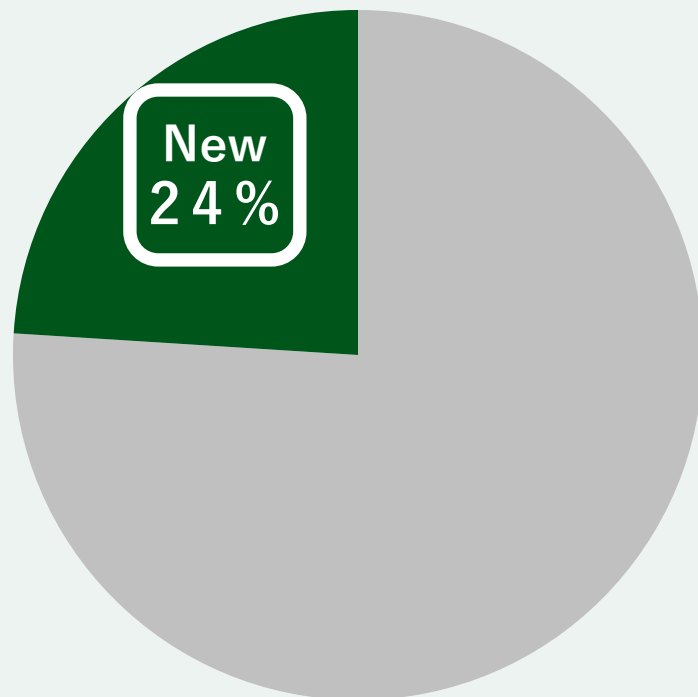
— So what?: 新規の微生物ゲノムを次々に解読することが可能

健常者(3名)ヒト糞便から採集した
微生物のシングルセルゲノム解析結果¹⁾



771個の腸内細菌ゲノム中、
**24%(185個, 12種)が
新種細菌由来**

(=NCBIの微生物ゲノム
データベースに登録がない)



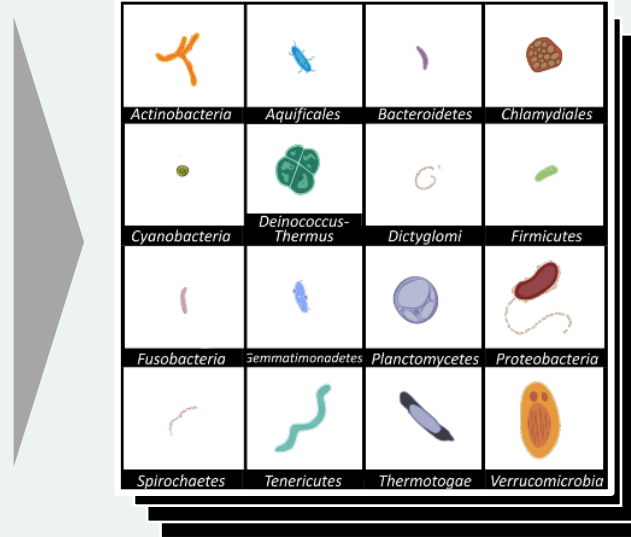
NCBIデータベースの
高品質
ヒト腸内細菌ゲノム登録数
425種 (617個)²⁾

**健常者3名分で
+12種 (+3%) の
インパクト**

メタ情報と組み合わせた微生物のゲノムカタログを創り、 次世代の産業応用へ



複雑な
微生物コミュニティから、



シングルセルゲノミクスにより
個別の微生物の
ゲノムカタログを作り、



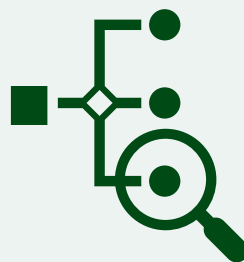
パートナー企業/研究機関とともに
産業応用へ

bit-MAP®の特長/優位性



広範なカバレッジ

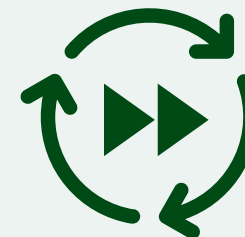
- 多種多様な微生物に対応可



高解像度

- 種レベルの下の株レベルまで解析可能

次ページに
具体事例あり

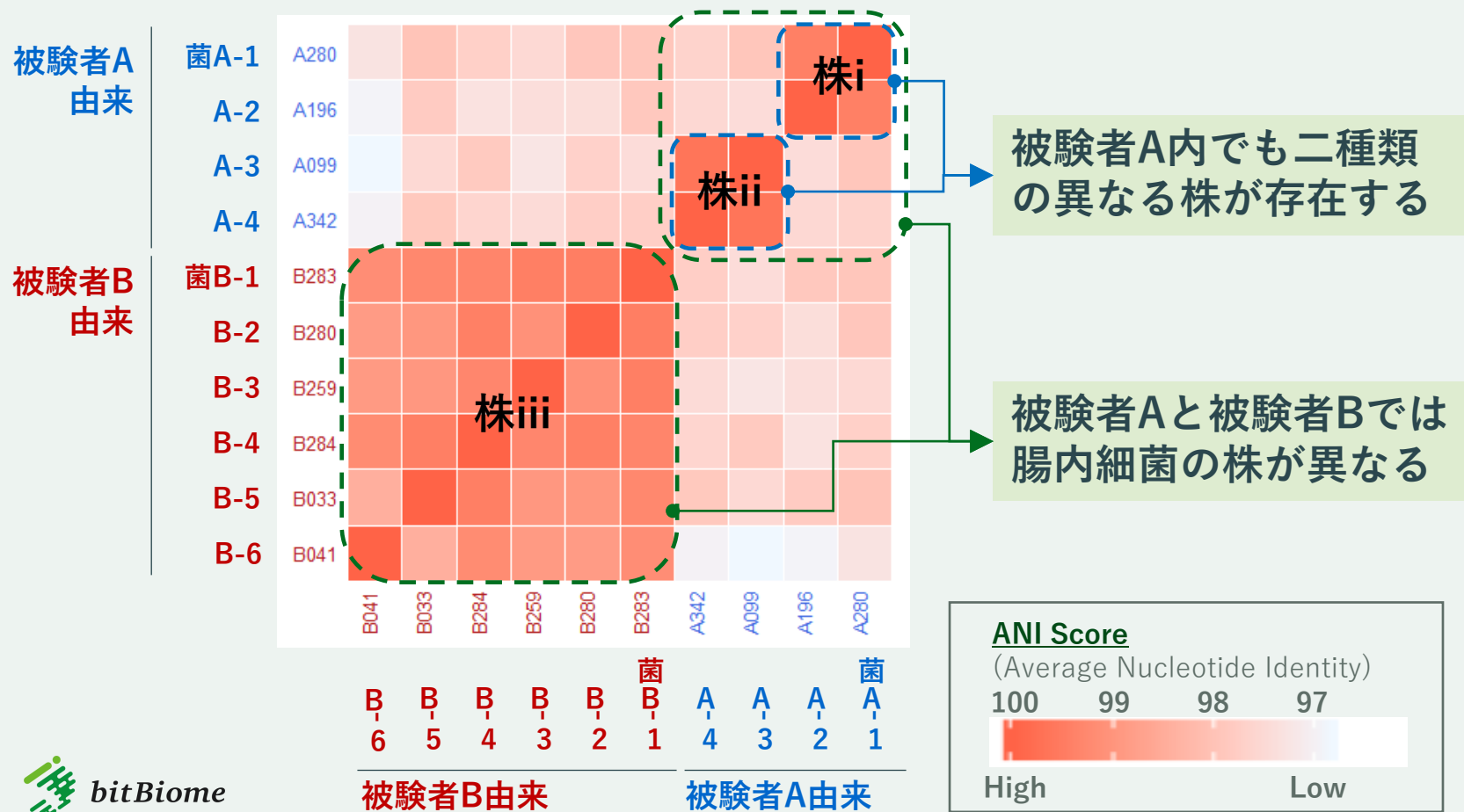


ハイスループット

- 同時にコスト低減を実現

bit-MAP[®]は、従来法では成し得なかった、 同一种の細菌の中の亜種（株）を特定

16S rRNA遺伝子により同一种として同定された
腸内細菌 種aの種内比較ヒートマップ



株レベルで違う
ことの意味合い

病原性大腸菌O-157 は、
我々の腸内に生息する
大腸菌の株違い



— bit-MAP®の存在意義 ; レゾンデートル (raison d'être)

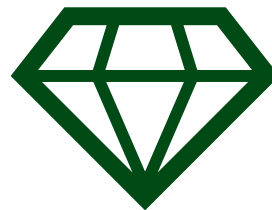
1細胞あれば
全ゲノムを読み切れる



培養自体が不要



微量な試料から
解析可能



真に "1細胞由来" の
ゲノムデータ
• No contamination

8つの特許出願とDBによりbitBiomeの技術的優位性を構築

bit-MAP[®]関連特許ポートフォリオ

基本特許 

Wet (Biology) 

Dry (Bio-Informatics) 

応用特許 



シングルセル
解析

その他 7つの特許を出願
(Confidential)

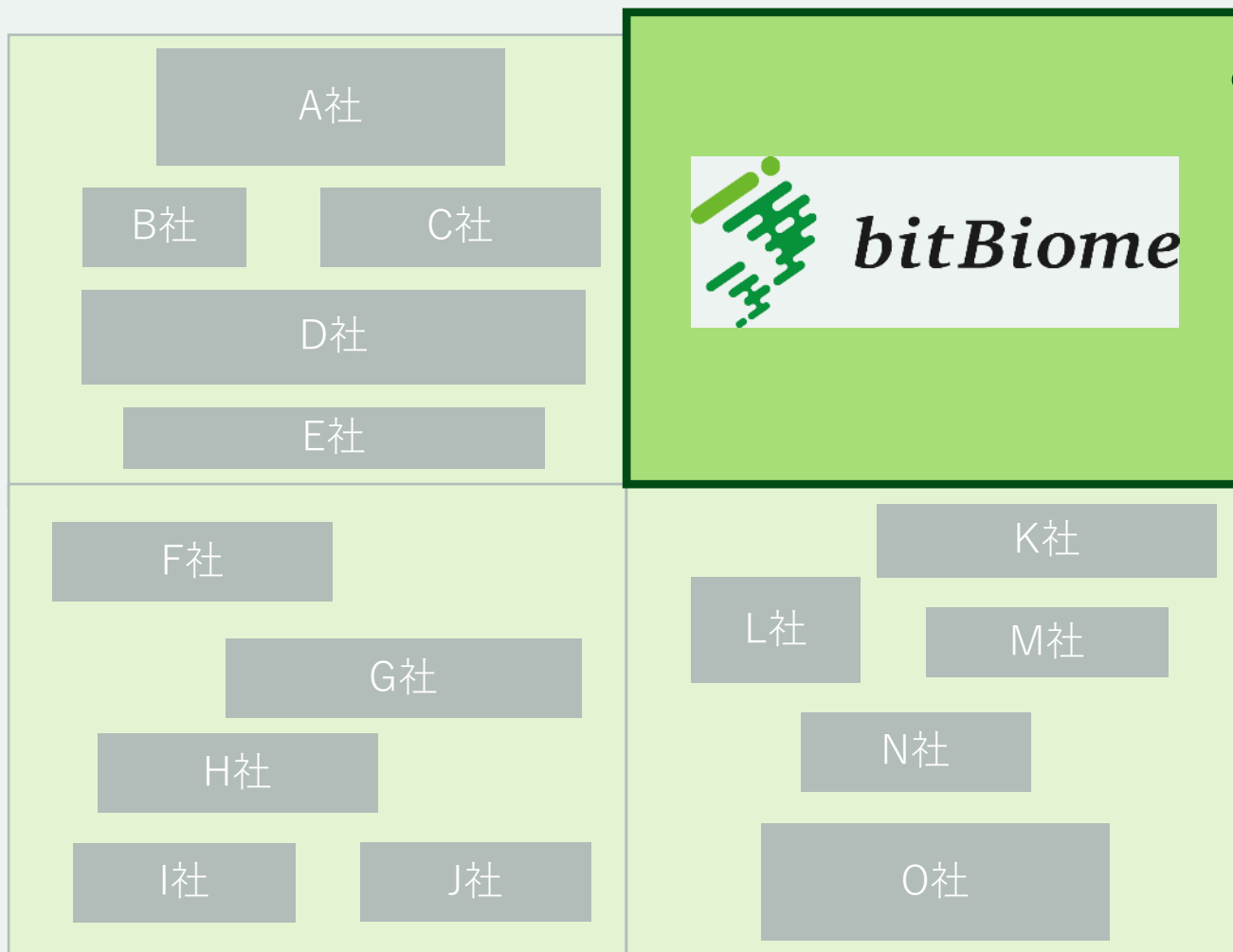
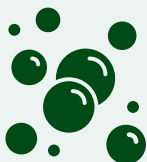
微生物ゲノム
データベース


“微生物” x “シングルセルゲノム” はbitBiomeのみが提供可能

シングルセル



多数細胞



ヒト・動物細胞



微生物



微生物ゆえの
シングルセル解析における
技術的ハードル

- 様々な形状・大きさ・細胞壁タイプにより画一的に解析不能
- サイズが小さく、DNA量も少ない
- コンタミネーションのリスク

医療分野でも、コミュニティ全体としての微生物叢の理解に加えて、カギとなる微生物を株レベルで特定することが重要

微生物のバランス/構成が健康のカギ

Nature Reviews Immunology Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease

Nobuhiko et al.
volume 13, pages321–335(2013)

- Community gut microbiota dysbiosis correlates with multiple immune-related diseases¹

株レベルでの詳細な理解が重要

Nature

A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity

Takeshi et al.
volume 565, pages600–605(2019)

- Mixture of 11 strains induce CD8 T cells with synergetic effect on immune checkpoint inhibitors

Nature Microbiology

Endogenous murine microbiota member *Faecalibaculum rodentium* and its human homologue protect from intestinal tumour growth

Elena et al.
volume 5, pages511–524(2020)

- F.rodentium*, *H.biformis* strains produce SCFA for an anti-tumor activity

Cell

Host-Specific Evolutionary and Transmission Dynamics Shape the Functional Diversification of *Staphylococcus epidermidis* in Human Skin

WeiZhou et al.
Volume 180, Issue 3, 6 February 2020, Pages 454-470.e18

- S.epidermidis* - strain level diversity affects human skin microbiome

カギとなる微生物特定の重要性を背景に、国立がん研究センターや農水省などがbitBiomeを研究/事業パートナーとして採択



国立がん研究センター
東病院
National Cancer Center Hospital

お知らせ一覧

2019.12.13 お知らせ MONSTAR-SCREEN付随研究、患者さんの腸内細菌叢を解析する研究「BIG BEN study」について、bitBiome株式会社と共同研究契約を締結しました



TECHNOLOGY SERVICE TEAM COMPANY NEWS CONTACT JP / EN

2019.11.28 PRESS

国立がん研究センターとの共同研究契約締結のお知らせ

bitBiome株式会社(代表取締役社長:大門 良仁、以下「bitBiome」)は、国立研究開発法人国立がん研究センター(理事長:中金 斉、東京都中央区 以下「国立がん研究センター」)と癌に関連する腸内細菌の解析に関する共同研究契約を2019年11月22日付で締結しましたので、お知らせ致します。

本共同研究は、SCRUM-Japan第三期プロジェクト MONSTAR-SCREENにおける付随研究として、MONSTAR-SCREENに参加された患者さんのサンプルの一部を用いて、腸内細菌叢のショットガンメタゲノム解析およびシングルセルゲノム解析を実施することで、研究にさらなる付加価値をもたらすものです。

特に腸内細菌叢のシングルセルゲノム解析は、bitBiomeによる日本発・世界初の技術的プラットフォーム(bit-MAP™)であり、がんと腸内細菌叢の関係において、これまで成し得なかった新種の菌の特定や、株レベルの菌のゲノム配列や機能の違いから臨床上的アウトカムを評価するという、世界的にも新たな試みです。

本体研究で得られる血液を用いたがん遺伝子解析(リキッドバイオプシー)と腸内細菌叢解析(16S rRNAメタゲノム)に、本共同研究の腸内細菌叢解析(ショットガンメタゲノム+シングルセルゲノム)を加えることで、様々な体細胞遺伝子変異を同時に検出可能となることから、がんの診断や治療の最適化に大きく貢献することが期待されています。

農林水産省

プレスリリース

令和元年11月5日
農林水産省

「令和元年度農林水産業等研究分野における大学発ベンチャー起業促進実証委託事業」公募にかかる支援対象者の決定について

支援対象者	技術シーズ名
株式会社アグロデザイン・スタジオ	硝化抑制剤のための構造ベース創薬基盤
株式会社セツロテック	受精卵エレクトロポレーション法
bitBiome株式会社	シングルセル技術を用いた微生物のゲノム解析



Source: 国立がん研究センター・農林水産省 web サイト、日本農業新聞 (2019年11月25日) http://www.maff.go.jp/j/press/keiei/kinyu/191105_16.html

最先端技術を農業現場にー



農家の側から
働き掛け必要

大学発ベンチャー活躍

梨収穫「相棒」ロボ運人

この5年間に農業分野に参入した大学発ベンチャーの例

大学名	社名	参入する技術や商品	主な事業内容(計画を含む)	参入年
専攻大学	MIJ labo	牛乳肉の画像分析	牛乳肉の肉質自動評価システムを	2018
大学	(エムアイジェイラボ)	と肉質評価	販売中	
宇都宮大学	アイ・イート	ロボットの設計と製造	農作業支援ロボットを開発、販売中	14
東京大学	アグロデザインスタジオ	酵素の働きを利用	畜産環境改善で作物の生育を促す菌液開発	18
早稲田大学	bitBiome	細胞単位の微生物	微生物を使った農業や肥料などの	13
名古屋大学	(ビットバイオーム)	ゲノム解析	開発	
名古屋大学	グランドグリーン	植物の成長	植物の成長を促進、収穫までの効率化	17
筑波大学	セツロテック	受精卵の画像解析	受精卵の画像解析、生産性の高い卵の選別	17
筑波大学	PLANT DATA (プラントデータ)	植物体の計測技術	完全計測装置を販売中	14

「アイ・イート」は、農家の側から働き掛け必要

微生物群の解析で 抽象的に全体像を捉え…

メタ16S rRNA解析

- 微生物群に含まれる菌のメンバーリストを手早く解析可
- 機能解析はできず、系統解析に特化
- 存在率が低い種は“その他”扱い

ショットガン メタゲノム解析

- 微生物群全体の組成/機能を解析可
- 一方、近縁種の比較やレア種のデータ取得は難しい
- 断片化された種混合ゲノム配列のPC上での再構築に課題も

シングルセル解析で ターゲットを完全に理解する

bit-MAP[®]による シングルセル解析

- 1個体ごとに、株レベルでゲノム配列から機能を解析
- その元となるゲノム配列は、間違いなくシングルセル由来
- レア種/難培養種まで幅広く解析可能



bit-MAP[®]は、メタ解析の代替ではなく、
共存による理解の深化、新たな価値の提供を促す

bit-MAP®のBioinformaticsプロセス

自社の独自解析パイプライン(一般的なツールを自動実行化)：
わずか数時間で数百細胞の解析が可能になっている

シングル
セルNGS
生データ

De novo
assembly

ドラフトゲノム
(品質評価)

系統解析
遺伝子領域推定

より詳しく知る
機能解析

次世代
シーケンサー
でDNA配列
を読む

配列情報をつなぎ
合わせゲノムを復元

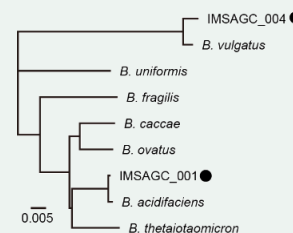
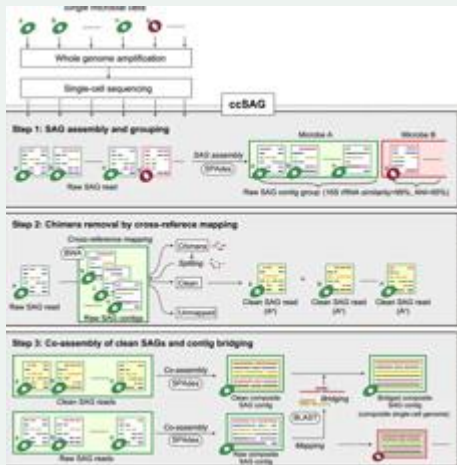
独自データベースを
参照しゲノムを精緻化

どの細菌が特徴的
に現れるか？

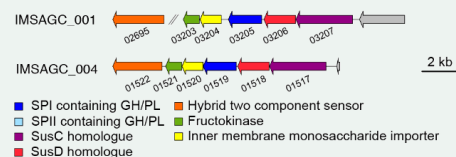
機能予測

代謝経路予測

3CCGATCTCGCTGGTTAAACGCAACAC
ACCTGGGAATCAATCGGTCGTCGTTGCC
CCGGGTACGGACATCGCTAACGTGGG
GTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTATT
CAAAAGCGCAAAACTGTATCTGCGC/
ATTCCCGGATTACGAGCCGATCGGG
ATGCGCAGAACTCTACAGCTATTGCTT
TGGCGGTAGCGGTAGATCGGTTATCGG
TGGCGGTAGCGGTAGATCGGTTATCGG
ACCTGGGAATCAATCGGTCGTCGTTGCC
ACCGGTACGGACATCGCTAACGTGG
GTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTATT

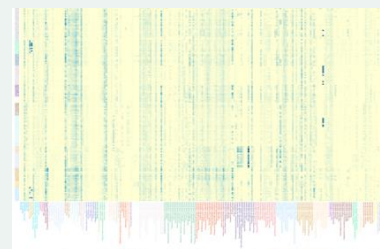


どんな遺伝子を
保有しているか？

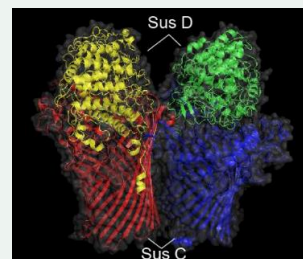


実際の腸内細菌機能解析事例

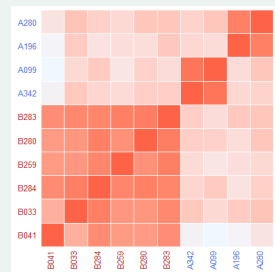
Chijiwa, R., Hosokawa, M., Kogawa, M. et al. Single-cell genomics of uncultured bacteria reveals dietary fiber responders in the mouse gut microbiota. Microbiome 8, 5 (2020).



タンパク質
構造予測



比較ゲノム解析



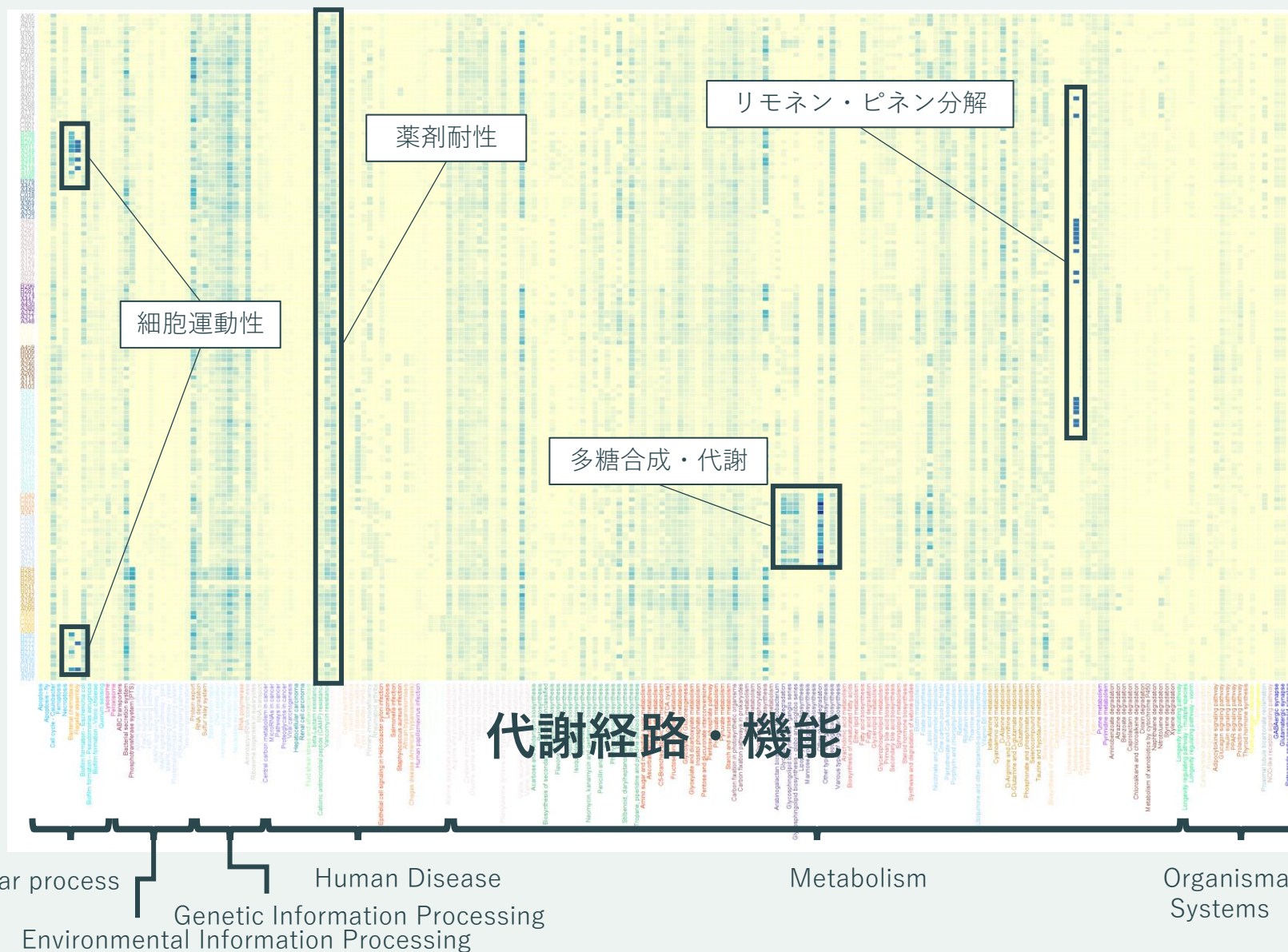
シングルセルだけでなく
ショットガンメタゲノム
ロングリードメタゲノム
などの解析技術も保有

Bionformaticsに関してもexpertiseを保有

Kogawa, M., Hosokawa, M., et al. Obtaining high-quality draft genomes from uncultured microbes by cleaning and co-assembly of single-cell amplified genomes. Sci Rep 8, 2059 (2018).

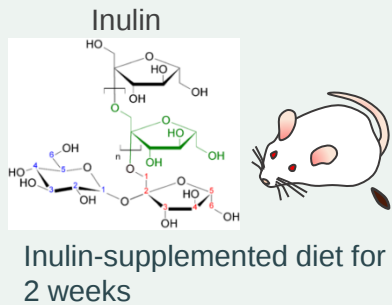
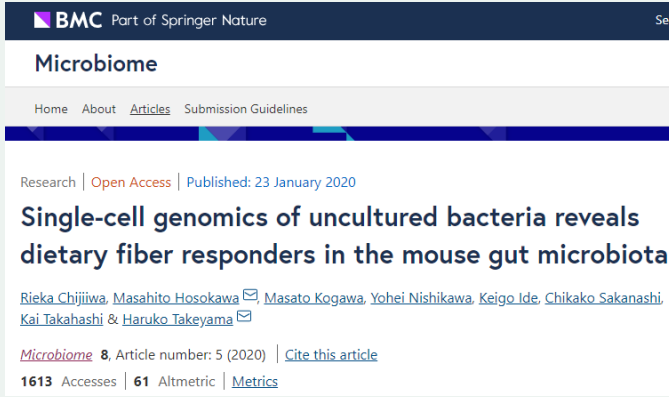
各細菌の機能を網羅的に評価し、目的の機能を持つ細菌を特定

細菌ID



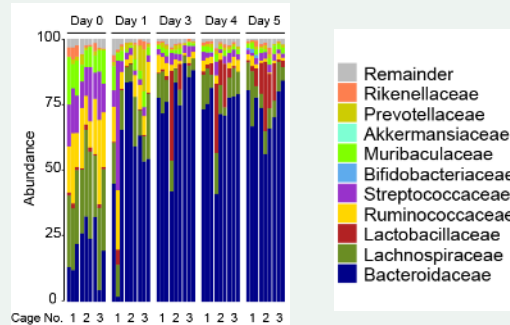
シングルセルとメタゲノム解析によって、 食物繊維の消化吸収に関わる菌を株レベルで特定

[Source] "Single-cell genomics of uncultured bacteria reveals dietary fiber responders in the mouse gut microbiota" **Hosokawa et al.** *Microbiome* 2020-01-23



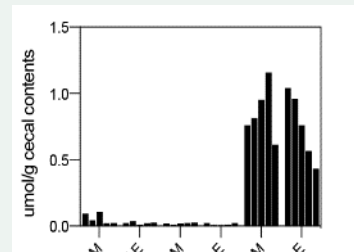
Metagenomics

Increase of *Bacteroides* sp.



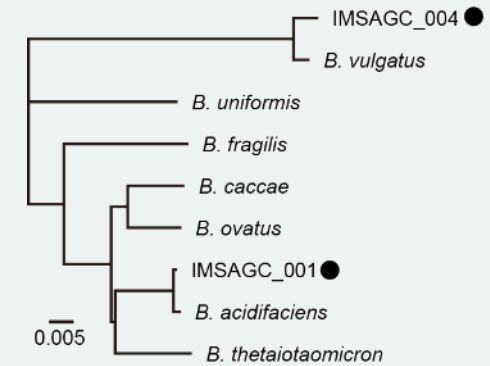
Metabolomics

Increase of succinate in ceacum

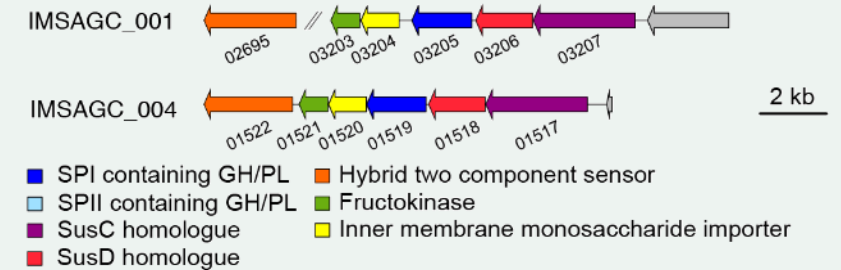


Single-cell genomics

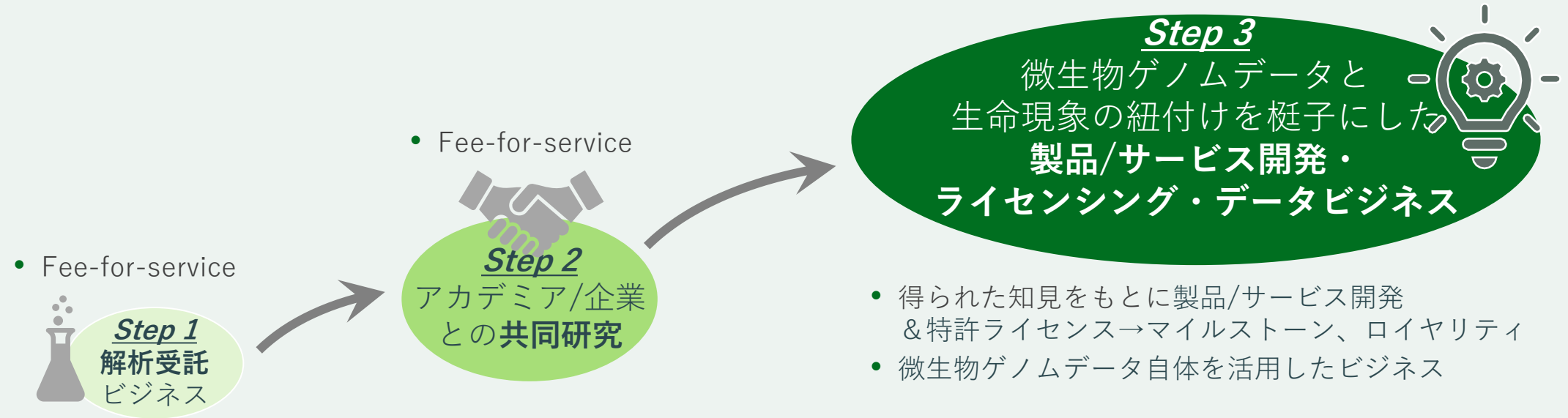
Analysis of more than 300 single-cell genomes
Identification of uncultured *Bacteroides* sp. genomes



Identification of inulin-utilization gene cluster and succinate synthesis pathway from draft genomes



bitBiomeのビジネスモデルは、技術提供からはじめ、 知財をもとにしたライセンシング・データビジネスへの進化を視野



具体
イメージ

研究機関や製薬企業との共同研究を通じ、
既存薬のターゲットとなる微生物を株レベルで特定

自社の微生物ゲノムデータベースを拡充

▶ 既存薬のコンパニオン診断としての
マイクロバイオーーム検査確立

▶ 疾患と紐付いた微生物ゲノムデータベースを
活用した、サブスクリプション型
データ利用・解析フィーサービス

bitBiome's mission

Unlock the Potential of Microbes





bitBiome