

講演番号：2B04-14

質疑応答日時、会場：3月19日 10:30～ ミーティングルーム B

自家蛍光シグネチャー解析による微生物の生死判別及び死因の推測

Spectrum of cell death: Single-cell innate fluorescence signature reflects the process of cell death
○張 譯云¹、高部 響介²、下段 千尋¹、野村 暢彦^{2,3}、八幡 穰^{2,3} (筑波大・生命環境学群、²筑波大・生命環境系、³筑波大・微生物サステナビリティ研究センター)

○Yiyun ZHANG¹, Kyosuke TAKABE², Chihiro SHIMODAN¹, Nobuhiko NOMURA^{2,3}, Yutaka YAWATA^{2,3} (Sch. of Life and Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. of Life and Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³MiCS, Univ. Tsukuba)

現在、細胞の生死は培養や染色などによって評価されている。一方、これらの破壊的または複雑な処理などを行わずに、非侵襲的に細胞の生死を判定することが困難である。そのため、微生物の生死を、迅速かつ無害に判定する方法が求められている。本研究では、これを解決する方策として、細胞の自家蛍光というものに着目した。自家蛍光は細胞にレーザー光を照射した際に、タンパク質、脂質、核酸などの様々な生体分子から生じる細胞内在性の微弱なシグナルである。そこで、細胞の生死によって異なる自家蛍光の特徴があると考えた。まず大腸菌をモデルとして、様々な殺菌方法の間に一細胞ごとの自家蛍光の総体（「自家蛍光シグネチャー」）を比較した。その結果、死細胞は特徴的な自家蛍光シグネチャーを有し、それに基づいて生細胞との判別ができることがわかった。また、機械学習手法を用いることで、細胞の死因（殺菌方法）を一細胞自家蛍光シグネチャーから予測できた。さらに、各種細菌系統間においても生死や死因によって共通する死細胞の特異的な自家蛍光パターンが存在するかを検討した。本研究の結果からは、微生物の生死を自家蛍光という細胞内在性のシグナルで非破壊的に判別できるだけでなく、さらに細胞の“死因”を迅速に判別できることを示唆しており、新たな微生物の生死判定法への利用が期待される。

A cell's innate fluorescence signature, an assemblage of autofluorescence signals emitted by a plethora of biomolecules within a cell, is known to serve as useful proxy to probe into a cell's physiological status. Here we comprehensively analyzed if the innate fluorescence signature can be harnessed to determine if a cell is alive or dead. We used CRIF (confocal reflection microscopy assisted innate fluorescence analysis), a technique we recently developed which allows analyzing innate fluorescence signature at the level of single-cell, to compare the innate fluorescence signatures of live and dead cells. The result showed that the dead cells exhibit distinct innate fluorescence signature, based on which a machine learning models could predict a cells live/dead with a high-level of accuracy. Furthermore, we found a different stimulus leaves characteristic intercurrent signature to the cells, which again allowed highly accurate classification by machine learning models. These results suggest innate fluorescence signature is a reliable marker for a cell's live/death status. We propose the innate fluorescence analysis is a promising addition to the arsenal of microbiology, which allows fast, simple and tag-free analysis of cell death.

Autofluorescence, non-invasive analysis, confocal microscopy