

講演番号：4A01-07

質疑応答日時、会場：3月21日 09:00～ ミーティングルームA

一細胞自家蛍光シグネチャーに基づく非破壊的な油脂生産性の予測

Phenotype Prediction Based on Single-cell Innate Fluorescence Signature Analysis: Tag-less Isolation of lipid producing phenotype as model system

○平山 智弘¹、八幡 志央美²、風間 春香³、高久 洋暁³、野村 暢彦^{2,4}、八幡 穰^{2,4} (1筑波大院・生命環境科学、²筑波大・生命環境系、³新潟薬科大・応用生命科学、⁴筑波大・微生物サステイナビリティ研究センター)

○Tomohiro HIRAYAMA¹, Shiomi YAWATA², Haruka KAZAMA³, Hiroaki TAKAKU³, Nobuhiko NOMURA^{2,4}, Yutaka YAWATA^{2,4} (¹Grad. Sch. of Life and Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. of Life and Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³Dept. Appl. Life Sci., NUPALS, ⁴MiCS, Univ. Tsukuba)

細胞の自家蛍光は細胞内の様々な生体分子が発する自家蛍光の集合体であり、これまでの研究から細胞の整理状態を反映することが知られている。我々の研究グループでは、細胞自家蛍光の解析を集団レベルから一細胞レベルの解析へと発展させる手法 CRIF (confocal reflection microscopy-assisted innate fluorescence signature analysis) を開発し、一細胞の自家蛍光の特徴「自家蛍光シグネチャー」を機械学習モデルに学習させることで増殖段階や種類などを高精度で予測できることを示した。一方で、自家蛍光シグネチャーが、細胞集団内に見られる表現系の不均一性や、物質生産能力をどのように反映するのかは分かっていない。そこで本研究では油糧酵母 *Lipomyces starkeyi* の油脂生産性と自家蛍光シグネチャーの関係を一細胞レベルで詳細に解析した。

細胞集団の自家蛍光を共焦点スペクトル顕微鏡で可視化すると、自家蛍光の特徴は非常に不均一であり、例えば青、緑、赤などの自家蛍光でそれぞれ特徴づけられる亜集団が存在した。本研究では一細胞ごとの自家蛍光と油脂生産性を対応づける新規観察系を構築し、自家蛍光シグネチャーと油脂生産性には明確な関係が存在することが回帰分析などから示された。さらに、油脂生産性の異なる複数の変異株の間でも、同様に自家蛍光から油脂生産ポテンシャルを予測する回帰モデルの構築が可能であった。これらの結果は、自家蛍光シグネチャーに基づいて細胞の油脂生産性を評価し、より有用な一細胞を選抜できる可能性を示している。従来までの化学分析や染色を介する分析と異なり、自家蛍光シグネチャーは非破壊的かつ迅速に一細胞レベルでの評価が可能であることから、より洗練されたスクリーニング手法開発の契機となることが期待される。

Innate fluorescence (IF) signature is an assemblage of autofluorescence emitted by various biomolecules within a cell and known to reflect a single-cell's physiological state. Recently, we have developed a novel technique to characterize innate fluorescence signature at the resolution of single-cell, a step forward compared to traditional population-level IF analysis.

Here, we have explored the feasibility of applying IF signature in expediting cell screening processes, using oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* as a model system. We firstly characterized the temporal dynamics of autofluorescence in *L. starkeyi*, which reflected the cellular lipid metabolism changing. Both the result of PCA and the machine-learning analysis pointed that the IF signature differs considerably among cells with distinct lipid production phenotypes. Furthermore, we could construct a linear and non-linear regression models that are capable of predicting lipid productivity of each single-cell in a heterogenous population based on IF signature. Taken together, our results demonstrate that CRIF-based analysis allows tag-less prediction of cellular phenotypes, which could serve as a powerful tool to streamline often labor-intensive and time-consuming phenotype screening process.

Autofluorescence, Lipid, Screening

発表責任者：八幡穰 (yawata.yutaka.ga@u.tsukuba.ac.jp)