

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

クライオ電子顕微鏡

(2) 研究代表者

氏名：西野邦彦

所属機関名・部局名・職名：大阪大学・産業科学研究所・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

深層学習による多剤耐性菌の画像判別法の開発

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：加藤貴之 (研究室名：電子線構造生物学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

***背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。**

多剤耐性菌の出現は現代の世界的な問題であり、感染症を克服することは医学的重要課題の一つである。新型コロナウイルス感染症治療の関係で抗生物質使用が増大したことで細菌の多剤耐性化が促進され、憂慮すべき数に上っていることが WHO でも指摘されている。これまで細菌の薬剤耐性獲得について、関係する個々の遺伝子や因子の変異や発現変化については詳しく研究されてきた一方で、薬剤耐性菌の形態についての研究はあまりなされておらず、耐性化によってどのような形態変化をもたらされているのか不明であった。我々は、薬剤耐性を獲得した細菌は、遺伝子のみならず形態学的にも変化が生じていることを見出した。そこで、本研究では、細菌の薬剤耐性化過程において形態学的変化が生じていることに着目し、バイオインフォマティクス解析による耐性菌の形態特徴抽出と機械学習を用いた薬剤耐性菌画像判別法を確立することを目的とした。薬剤耐性菌の 1 つであるエノキサシン (ENX) 耐性大腸菌株と非耐性大腸菌株を用い、加圧急速凍結一凍結置換法により細菌細胞を固定し試料作成を行った。透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて、細胞断面を含む超薄切片の TEM 画像を取得した。ENX 耐性菌と非耐性菌の TEM 画像から多量のパッチを作成し深層学習による分類を行い、分類結果に基づいて菌株を同定した。提案手法は細胞の判別精度が高く、0.94 の精度を達成した。さらに、10 種類の薬剤耐性株 40 株の光学顕微鏡画像を取得し、抽出されたシングルセルの形態計測を行った。株ごとにおよそ 2 万個の細胞を用い、ヒストグラム交差法により非耐性株と耐性株の類似性について比較した結果、薬剤耐性株の中でもキノロン耐性株と β ラクタム耐性株が特に親株との類似度が低く、細胞の円形化が生じていることが明らかとなった。次に、遺伝子共発現ネットワーク解析により形態特徴データ高い相関を持つ遺伝子を探索した。その結果、細胞の円形化に関わる項目と高い相関を持つグループに含まれる遺伝子群において、細菌の多剤耐性に重要な複数の薬剤排出ポンプと薬剤耐性化の制御に関与するストレス応答遺伝子が含まれていることが見出された。