

(様式 1-1)

提出日：2025 年 4 月 24 日

2024 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、ほかは削除してください。）

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ください。）

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

*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。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がもたらされているのか不明であった。我々は、薬剤耐性能を獲得した細菌は、遺伝子のみならず形態学的にも元の感受性株から変化していることを見出した。本研究では、細菌が薬剤耐性化に伴って形態変化を起こすことに着目し、バイオフィ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。アミノグリコシド系抗菌薬の耐性株と非耐性株を用い、加圧急速凍結—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、300nm 厚さの試料切片を $\pm 60^\circ$ の角度で回転させ撮像した。IMOD ソフトウェアを用いてこれらの画像セットから電子線トモグラムを構築した。深層距離学習に基づく手法を用いて耐性菌および非耐性菌トモグラムから細胞質中の粒子（生体高分子）の検出を試みた。上記解析と並行して薬剤耐性菌の光学顕微鏡解析を行なった。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。形態特徴のバイオフィンフォマティクス解析の結果、薬剤耐性株は非耐性菌と比べて細胞がより太く短くなっていることが明らかになった。さらに、遺伝子共発現ネットワーク解析により形態特徴と相関の高い遺伝子を探索した。その結果、形態特徴の多くがエネルギー代謝や細胞分裂に重要な遺伝子と相関が高かった。また、細胞の円形化と高い相関を持つ遺伝子群の中には多薬剤排出ポンプやストレス応答遺伝子が含まれており、耐性機構との関連が示唆された。最後に、本研究で提案した手法により、細胞の輪郭線情報から薬剤耐性の有無を高精度に判別することに成功した。