

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文)	バイオフィルムの透明化ライブイメージング法の開発		
研究テーマ (英文)	Development of optical clearing methods for live-cell imaging of biofilms		
研究期間	2019 年 ~ 2022 年	研究機関名 東京慈恵会医科大学	
研究代表者	氏名	(漢字)	杉本 真也
		(カタカナ)	スギモト シンヤ
		(英文)	Sugimoto Shinya
	所属機関・職名	東京慈恵会医科大学・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

病原菌がヒトの体内や医療器具(カテーテルなど)の表面にバイオフィルムを作ってしまった場合、バイオフィルムの内部の菌は抗菌薬やヒトの免疫に対して抵抗性を示すため、感染症の難治化の原因となる。現在、バイオフィルムのことを深く理解し、バイオフィルムを作らないように制御する方法の確立が社会的に求められる。そのためには、バイオフィルムの構造や、バイオフィルムに含まれる成分(多糖体、タンパク質、核酸など)を顕微鏡で詳しく観察することが重要である。従来、バイオフィルムの観察には、共焦点レーザー顕微鏡が用いられてきた。しかし、厚さが数十マイクロメートルを超えるような分厚いバイオフィルムの場合、光の透過性が低いため、バイオフィルムの表面しか観察することができない。そこで本研究では、バイオフィルムの構造を壊さずに、様々な菌のバイオフィルムに利用可能なバイオフィルム透明化イメージング法の開発に取り組んだ。私たちは、バイオフィルムに近い屈折率を持った水溶液をバイオフィルムに加えるだけで、瞬時にバイオフィルムが透明にできることを発見した。本手法を用いることで、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腸球菌、枯草菌、大腸菌、緑膿菌などの細菌や、カンジダ アルビカンスのような真菌のバイオフィルムを透明化でき、共焦点レーザー顕微鏡などで、深部まで詳しく観察できるようになった。また、蛍光色素で標識した抗体などを併用することで、バイオフィルムの形成に重要な成分の観察も容易に行うことが可能になった。また、瞬間的にバイオフィルムを透明化できる利点を活かして、菌が生きた状態でバイオフィルムが形成されていく過程を最速1フレーム/1分の時間分解能でイメージングできるようになった。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Instantaneous Clearing of Biofilm (iCBiofilm): an optical approach to revisit bacterial and fungal biofilm imaging				
	著者名	Shinya Sugimoto, Yuki Kinjo	雑誌名	Communications Biology		
	ページ	～	発行年	2 0 2 3	巻号	In press
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Whole-biofilm imaging at single-cell resolution is necessary for analysis of cellular heterogeneity, functions of key biofilm matrix components and response to immune cells and antimicrobials. To this aim, we developed a whole-biofilm clearing and imaging method, termed instantaneous clearing of biofilm (iCBiofilm) which uses one of the reflective index-matching media to observe biofilms at a single-cell resolution. Our method is applicable to several gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*) and -negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*), as well as the eukaryote *Candida albicans*. Additionally, iCBiofilm enabled live and dynamic imaging of biofilm development and response to antimicrobial agents, which has not yet been achieved by conventional tissue-clearing methods. We believe that our study makes a significant contribution to the literature because the application of tissue-clearing agents to biofilms has not been investigated in depth, and our findings will contribute to the advancement of medical and industrial applications of biofilms.