周波数分割多重イメージングフローサイトメトリーによる微細藻類の高精度分類

Accurate classification of microalgal cells by frequency-division-multiplexed imaging flow cytometry

東大理 [1], JST[2], 東大工 [3]
(M1)菅野 寛志 [1], ハーマン ジェフリー[1], ○三上 秀治 [1], 伊藤 卓朗 [2], 小関 泰之 [3], 合田 圭介 [1,2]
School of Sci., Univ. of Tokyo[1], JST[2], School of Eng., Univ. of Tokyo[3],
Hiroshi Kanno[1], Jeffrey Harmon[1], °Hideharu Mikami[1],
Takuro Ito[2], Yasuyuki Ozeki[3], Keisuke Goda[1,2]
E-mail: mikami@chem.s.u-tokyo.ac.jp

イメージングフローサイトメトリーは、その空間解像能力により、従来のフローサイトメトリーよりも高い精度において細胞集団を分析することが可能な技術である。しかしながら従来のイメージングフローサイトメーターの細胞スループットはおよそ 1,000 細胞/秒であり、通常のフローサイトメーターのスループットと比べると 1 桁以上低いため、大量の細胞集団の解析は困難であった。今回我々は、独自に開発した周波数分割多重技術を応用したイメージングフローサイトメトリーを用いて、従来のフローサイトメトリーと同程度の流速(2 m/s, 20,000 細胞/秒程度に相当)における微細藻類集団の高精度な分類を報告する。実験では 6 種の微細藻類を別々に準備し、SYTO16 を用いて核を蛍光染色し、上記の撮像方式により細胞の 3 色画像（明視野、核の蛍光、クロロフィルの自己蛍光）を取得した。その後、各 3 色画像から 251 次元の特徴を抽出し、得られた多次元データをもとにサポートベクターマシンを用いて細胞の分類を行った。その結果、6 種の微細藻類細胞群が 99.5%の精度で分類されたことを確認した。これに対して、明視野像のみを用いた分類精度は 92.3%、強度情報のみを用いた分類精度は 82.6%であり、蛍光画像が高精度な分類に重要な役割を果たすことが明らかになった。このような微細藻類の高精度分類は、水質検査等へ応用可能であるほか、同一の手法を白血球等の分類に応用することも可能であり、幅広い分野での応用展開が期待される。

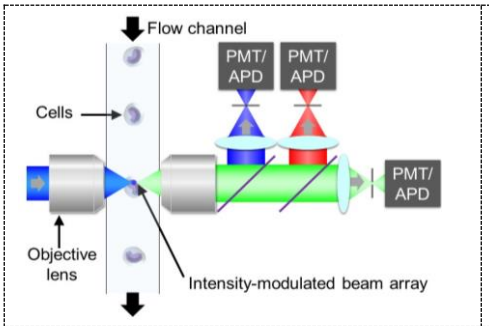

Fig. 1. Schematic of frequency-division-multiplexed imaging flow cytometry. PMT, photomultiplier tube; APD, avalanche photodiode.

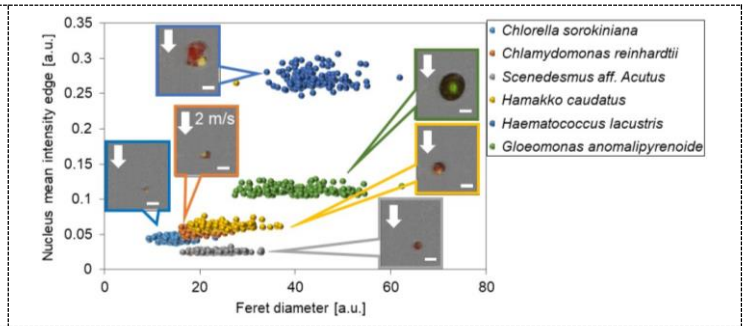

Fig. 2. Scatter plot of six microalgal species. Scale bars:10 μm.