

## 海馬神経細胞のラマンイメージング

### Raman Imaging Analysis of Live Hippocampal Neuronal Cells

産総研・阪大 先端フォトバイオ<sup>1</sup>、阪大院 生命<sup>2</sup>、阪大院 工<sup>3</sup>、産総研 バイオメディカル<sup>4</sup>、オーストラリア国立大学<sup>5</sup>

○(P) 増井 恭子<sup>1,2</sup>、(P) 名和 靖矩<sup>1,3</sup>、(M1) 望月 葵<sup>3</sup>、石飛 秀和<sup>1,2,3</sup>、細川 千絵<sup>1,4</sup>、Vincent R. Daria<sup>5</sup>、藤田 克昌<sup>1,3</sup>、井上 康志<sup>2,3</sup>

PhotoBIO Lab, AIST-Osaka Univ.<sup>1</sup>, Frontier Biosciences, Osaka Univ.<sup>2</sup>, Applied Physics, Osaka Univ.<sup>3</sup>, Biomed. Res. Inst., AIST<sup>4</sup>, JCSMR, Australian National Univ.<sup>5</sup>

○Kyoko Masui<sup>1,2</sup>, Yasunori Nawa<sup>1,3</sup>, Aoi Mochizuki<sup>3</sup>, Hidekazu Ishitobi<sup>1,2,3</sup>, Chie Hosokawa<sup>1,4</sup>, Vincent R. Daria<sup>5</sup>, Katsumasa Fujita<sup>1,3</sup>, Yasushi Inouye<sup>2,3</sup>

E-mail: masui-k@aist.go.jp

ラット胎児から取り出した発達初期の神経細胞は、基板上で培養を行っても、脳組織内の神経細胞と同様に、生体内分子の組成やその分布を変化させ、同じ生理学的特性を発現する。成長していく神経細胞の分子組成変化は、ラマン分光法を用いることで、生きたまま長期間、低侵襲で測定することができる[1]。我々は、海馬神経細胞内に分布する生体内分子を広範囲で観察するため、ラインスキャンによるラマンイメージングを試みた。胚令 18 日のラット胎児から採取した海馬神経細胞を基板上に分散播種し、神経細胞用培養液中で培養した。40 倍対物レンズ (N.A. 1.25) を用いて、波長 532 nm の CW レーザー (試料面での強度  $3 \text{ mW}/\mu\text{m}^2$ ) を緩衝液に浸した神経細胞に対してライン照射した。レーザースキャン (露光時間 10 秒/ライン、スリット幅  $40 \mu\text{m}$ ) により

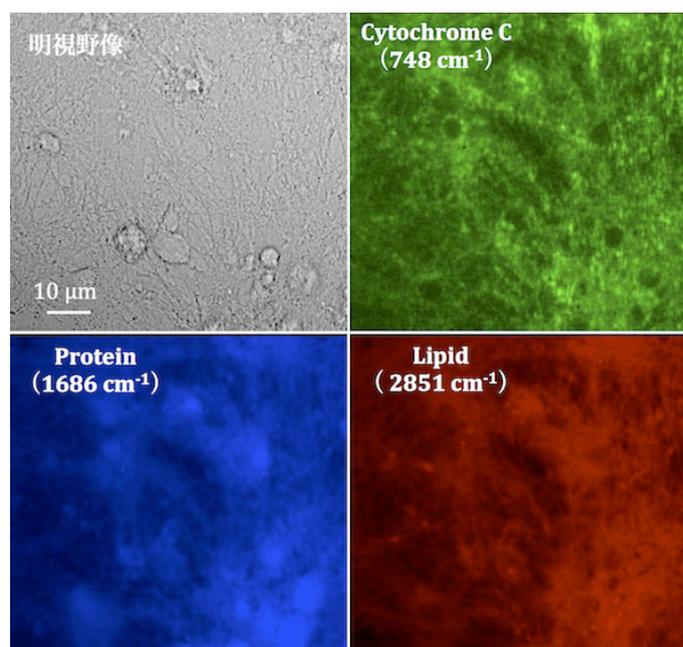


Fig. 1: Bright field image and Raman images of Primary Neuronal cells (day 30) describing distributions of Cytochrome C, Protein and Lipid

各点でのラマンスペクトルを取得した。スペクトルには、ミトコンドリアの内膜に結合するチトクロム C ( $750 \text{ cm}^{-1}$  付近)、たんぱく質の  $\beta$  シート構造に含まれるアミド I 結合 ( $1686 \text{ cm}^{-1}$  付近)、脂質内の CH 結合 ( $2850 \text{ cm}^{-1}$  付近) など、細胞内部に多く存在する生体分子由来のピークが現れ[2]、各ラマンピークを元に、共焦点ラマン画像を構築することに成功した (Fig. 1)。この手法により、培養日数に伴う分子組成の変化およびその分布の全体像を調べることができる。

[1] K. Hashimoto et al., *Analyst*, 140, 2344 (2015). [2] K. Fujita et al., *Mol. Cells*, 26, 530 (2008).