振動分光フローサイトメトリーによる大規模無標識 1 細胞解析

Large-scale label-free single-cell analysis by vibrational flow cytometry

東大 [1], JST さきがけ [2], ユーグレナ [3], UCLA[4], 武漢大 [5]　○平松 光太郎 [1,2], Matthew Lindley[1], 山田 康嗣 [3], 鈴木 健吾 [3], 合田 圭介 [1,4,5]

UTokyo [1], JST PRESTO [2], euglena Co., Ltd,[3], UCLA[4], Wuhan Univ.[5]

○Kotaro Hiramatsu[1,2], Matthew Lindley, Koji Yamada[3], Kengo Suzuki[3], Keisuke Goda[1,4,5]

E-mail: hiramatsu@chem.s.u-tokyo.ac.jp

フローサイトメトリーは 1 細胞分解能を保ちつつ多数(10,000 以上)の細胞を測定できる手法であり，現代の微生物学，免疫学，血液学において欠かすことのできない分析手法である．現在主流の蛍光検出型のフローサイトメーターでは，多様な細胞形質を計測することが可能である一方で，蛍光色素による細胞毒性や色素の退色などといった蛍光染色に由来する問題も多い．そのような問題を克服するために，我々は，高スループットかつ広帯域のラマン分光フローサイトメーターを開発し，種々の細胞の無標識 1 細胞解析へと応用展開を行っている．本講演ではその原理と藻類細胞のスクリーニングへの応用について発表する．

図 1 に開発した広帯域・高スループットラマン分光フローサイトメーターを示す[1]．フェムト秒レーザーからの出力を，マイケルソン干渉計を用いてポンプ-プローブパルスペアに分解し，マイクロ流路中を流れる細胞に照射する．ポンプ光によって励起される分子振動を一定間隔後に照射されるプローブ光の波長変化で検出する[2]．図 2 に本手法によって計測したユーグレナ細胞の 1 細胞のスペクトルを示す．スペクトルでは，パラミロン，タンパク質，脂質に帰属できる複数のピークが観測された．また，細胞ごとに各ピーク強度が異なっており，本手法を用いて種々の生体分子の細胞内含有量を無標識に大規模解析できることが示されている．講演では測定されたスペクトル成分の帰属・解釈およびその統計処理について議論する．

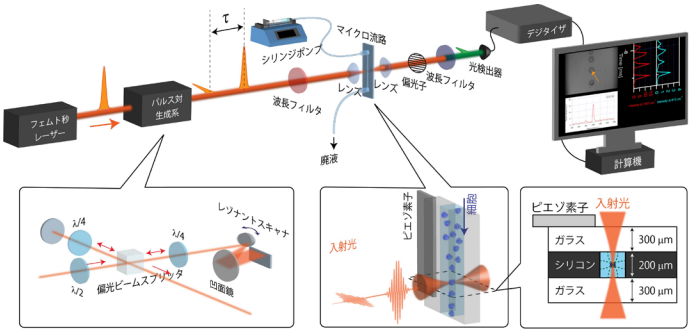

図 2　広帯域･高スループットラマン分光フローサイトメーターの概略図

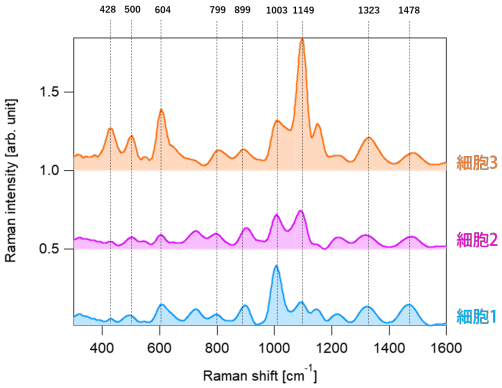

図 1　ユーグレナ 10,000 細胞から測定したラマンスペクトルの 3 例．10,000 スペクトルを特異値分解し，ノイズ成分を除去した．

【参考文献】 [1] K. Hiramatsu et al., Sci. Adv. 5, eaau0241 (2019). [2] K. Hashimoto, et al., Sci. Rep. 6, 21036 (2016).

© 2019年 応用物理学会