

狭帯域・低波数分解能ラマン顕微鏡法による細胞分析の高効率化

Narrowband and low-resolution Raman microscopy for high-throughput cell analysis

阪大院工¹, 京府医大病理² ○熊本 康昭^{1,2}, 望月 健太郎¹, 橋本 剛佑², 原田 義規², 田中 秀央², 藤田 克昌^{1,2}

Osaka Univ.¹, Kyoto Pref. Univ. Med.² ○Yasuaki Kumamoto^{1,2}, Kentaro Mochizuki¹, Kosuke Hashimoto², Yoshinori Harada², Hideo Tanaka², Katsumasa Fujita^{1,2}

E-mail: kumakpum@koto.kpu-m.ac.jp

ラマンイメージングはスペクトルの多重測定により高速化され、生きた細胞の無標識分子分析を可能にしてきた(1, 2)。しかしその計測スピードは今尚、既存の染色ベースの技術に比べ4桁以上遅い。ラマンイメージングのさらなる高効率化には、一度に多重測定できるスペクトル数を増やすか、一度の測定にかかる時間を短縮する必要がある。前者はマルチラインラマン顕微鏡により最近実現された(3)。本講演では、後者を実現する狭帯域ラマン分光イメージング法を紹介する(4)。ラマン測定では 1000cm^{-1} 以上の広帯域を二次元検出器により同時測定するため、読み出す素子数が多く読み出しに時間を要する。スペクトル測定範囲を 100cm^{-1} 程度にまで絞る狭帯域測定を行えば、読み出す素子数を減らせ、読み出し時間を短縮できる。

狭帯域測定による細胞分析ではどの波数域を選択するかが重要である。今回、測定波数域を $1397\text{--}1501\text{cm}^{-1}$ とし2種類の乳腺由来細胞株の判別を行った。この波数域の利用は、細胞成分である脂質、タンパク質、核酸の寄与に比べて緩衝液と培養基板の寄与は無視できるほど小さい、試料の自家蛍光によるベースラインが直線的であり補正しやすい、という点で有利である。ベースライン補正したスペクトルを主成分回帰判別分析した結果、2種類の細胞株を90%以上の正確度で判別できた。読み出し時間は1/24に短縮され、測定時間は1/5に短縮された。

ラマンイメージングをさらに高効率化するため、検出器をビンニングし低波数分解能測定を行った。これにより読み出し時間を1/4に短縮できただけでなく、信号積算時間を1/4に短縮しても信号対雑音比を維持できた。その結果、広帯域・高波数分解能測定に比べ21倍の速さのラマンイメージングを実現できた (Figure)。この条件で取得したスペクトルでも2種類の細胞株を90%以上の正確度で識別できた。さらに、この方法をマルチラインラマン顕微鏡法と融合した結果、ラマンイメージングをさらに5倍高速化できた。

参考文献

1. K. Hamada et al., J. Biomed. Opt. 2008, 13, 044027.
2. A. Palonpon et al., Nat. Protoc. 2013, 8, 677-692.
3. K. Mochizuki et al., Submitted.
4. Y. Kumamoto et al., Submitted.

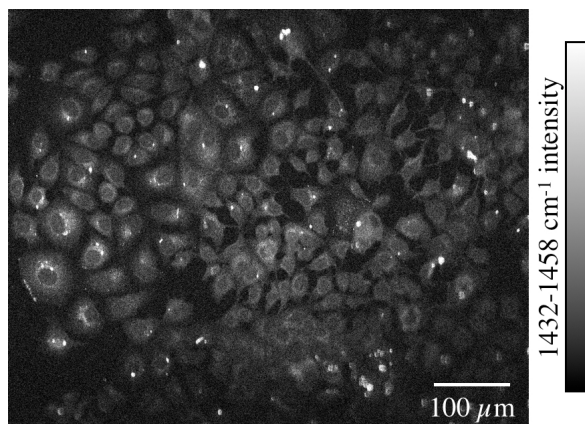


Figure: A Raman image (1200 × 1500 pixels) of living cancer cells derived from a human mammary gland (MCF-7), acquired with a 25× objective (NA = 1.1), at 532 nm excitation, and in 21 minutes.