ラマンタグを用いた超多色フローサイトメトリー

Multiplex flow cytometry enabled by Raman probes

東大院理 [1]，理化学研究所 [2]，コロンビア大 [3]，UCLA[4]，武漢大 [5]，○ (D2)西山 諒 [1]，平松 光太郎 [1]，河村伸太郎 [2]，闡闡 孝介 [2]，(B)古屋 圭惟 [1]，Wei Min[3]，袖岡幹子 [2]，合田 圭介 [1,4,5]

UTokyo [1], RIKEN [2], Columbia University[3], UCLA[4], Wuhan Univ.[5], °Ryo Nishiyama[1], Kotaro Hiramatsu[1], Shintaro Kawamura[2], Kosuke Dodo[2], Kei Furuya[1], Wei Min[3], Mikiko Sodeoka[2] , 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、生物学や医学の多様な分野において、大規模な細胞集団を計数・分析するために重要な手法である。特に標的分子に特異的に結合する蛍光プローブを用いて、細胞中の特定の化学種の検出が行われる。また、蛍光波長の異なる複数の蛍光プローブを用いた複数の標的分子の同時分析が可能である。しかしこの従来法では異なる蛍光プローブからの蛍光スペクトルの重なりから、同時に定量可能な化学種の数は通常 10 程度に制限されるという問題がある。

本研究では上記の課題を解決するため、ラマンタグを用いたフローサイトメトリー法を開発した。ラマンスペクトルはスペクトル線幅が狭いため、ラマンタグを用いスペクトルの重なりを抑えた。タグの検出にはフーリエ変換コヒーレント反ストークスラマン散乱(FT-CARS)フローサイトメーター[1]を用い、高速・広帯域測定を実現した。強い共鳴ラマン散乱を示すシアニン系色素をポリマーナノ粒子に高濃度で内包したラマン活性ドット(Rdot)をタグとして作製し、信号積分時間 420 μs で粒子濃度 12 nM の低い検出限界を達成した。実証実験として 12 種類の Rdot で染色した乳がん細胞種(MCF-7)の多色フローサイトメトリーを実施し、98.0%の分類精度を得た[2] (図 1)。

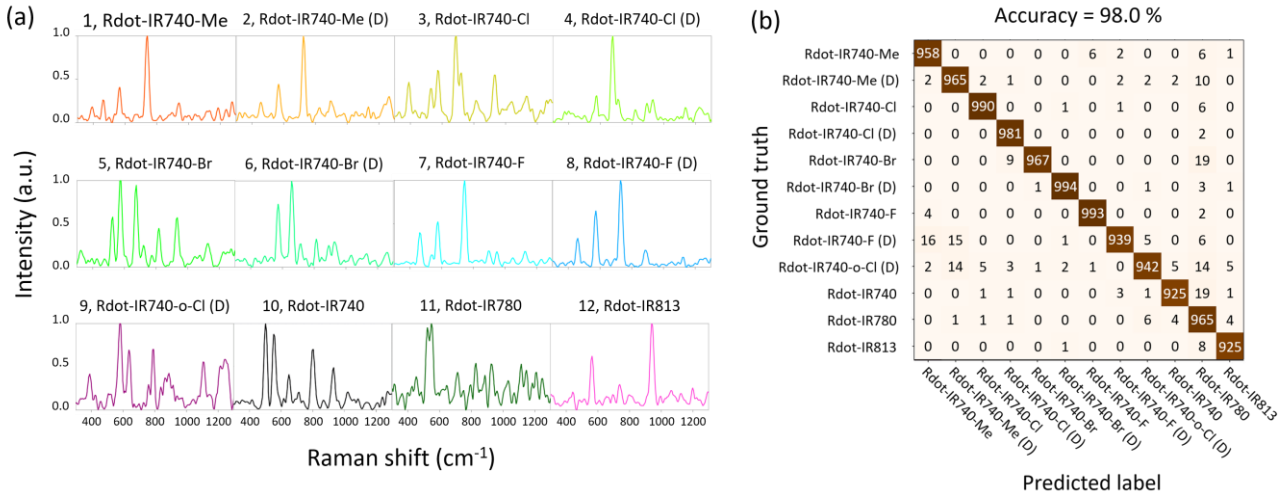

図 1. ラマンタグを用いた超多色フローサイトメトリーの実証結果　(a) 12 種類の異なる Rdot で染色された MCF-7 細胞から得られた 1 細胞ラマンスペクトル(信号積分時間:1ms)，(b)測定されたラマンスペクトルに基づいた細胞分類についての混同行列.

[1] K. Hiramatsu, et al., *Sci. Adv.* 5, 241–257 (2019). [2] R. Nishiyama, et al., *PNAS Nexus* (2023) in press.