



Active agingを支援するバイオメディカル工学の研究拠点
—福島県の震災復興に貢献する医工連携研究—

ラマン分光法による 疾患関連分子の定量法の開発

環境システム研究室
田中 裕之
環境照射化学研究室
沼田 靖

研究背景と目的

ACTIVE AGINGを支援する癌や脳疾患等の診断・予防・治療のための新規機能分子および測定法の開発をめざし、ラマン分光法により新たな疾病関連分子の分析方法を開発することで、疾病の早期診断や、疾病メカニズムの解明を行うものである。

ラマン分光法の利点として、① どんな分子・相にも適応可能である。② 水溶液でも利用可能である。③ 高分解能である。この利点を使って、疾病関連分子の定量を試みた。

実験方法

ラマン顕微分光測定はRenishaw社製inViaで行った。この装置は励起レーザーに532 nmと785 nmのふたつを搭載しており、試料の状況によって励起光を選択した。レーザー光を顕微鏡のレンズで集光してサンプルに照射した。散乱光を分光器に導入し、CCD検出器で検出した。スペクトルの分解能は4 cm⁻¹であった。

種々の濃度既知の試料溶液を作成し、基準物質と共にラマンスペクトルを測定した。基準物質に対するラマン強度比を求め、検量線を作成した。



図1 ラマン分光装置

アミノ酸の定量分析

種々の必須アミノ酸のラマンスペクトルを測定して、ラマン強度比が濃度に比例することを明らかにした。図2に代表的なアミノ酸であるグリシンのラマンスペクトルを示す。900 cm⁻¹のピークを用いて、濃度に対するラマン強度比をプロットすると濃度に対して直線関係が得られた。他のアミノ酸(アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニンおよびトリプトファン)についても、検量線は直線となった(図3)。

Numata, Otsuka, Yamagishi, Tanaka, Analytical Letters, 50, (2017), 651-662.

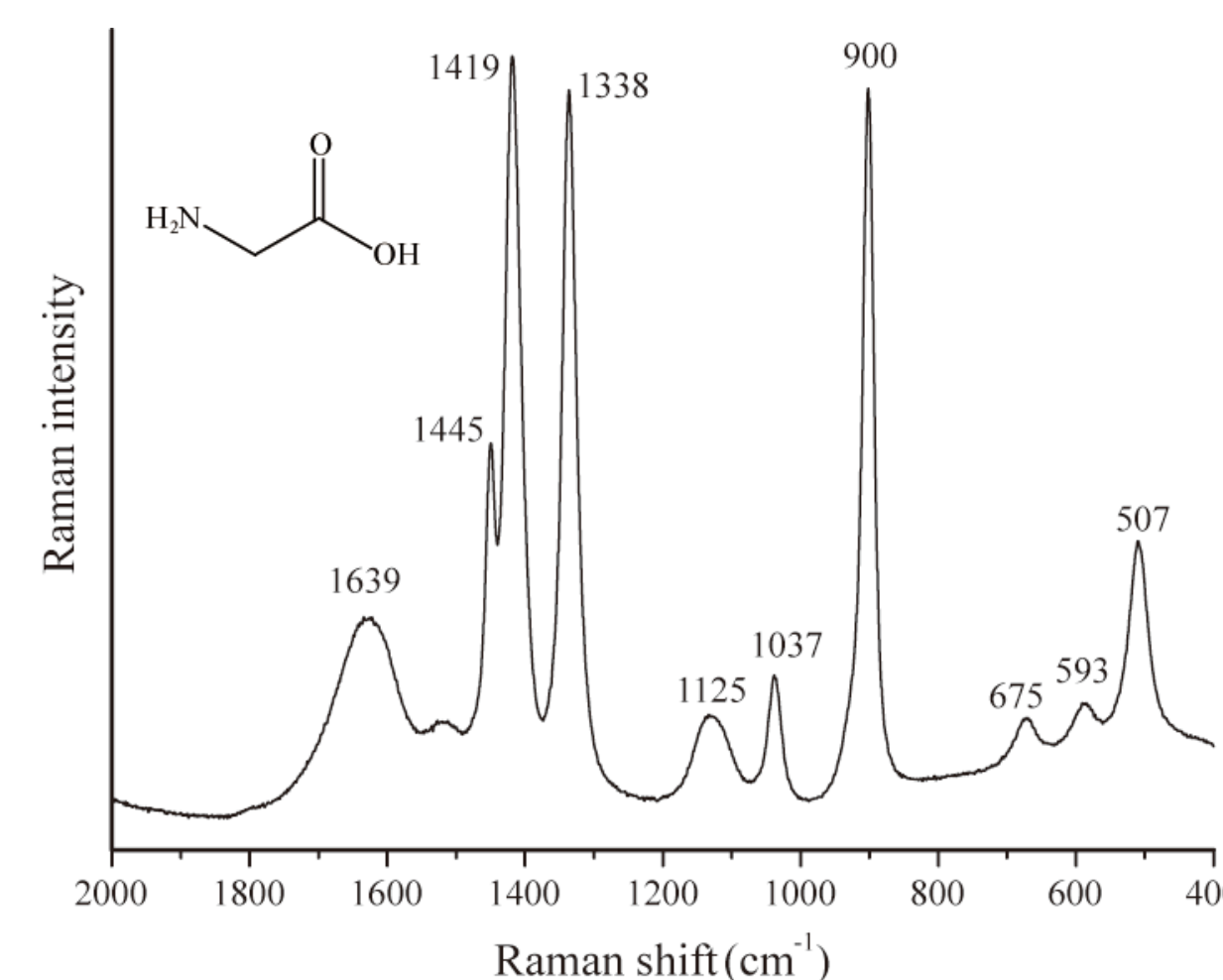


図2 グリシンのラマンスペクトル

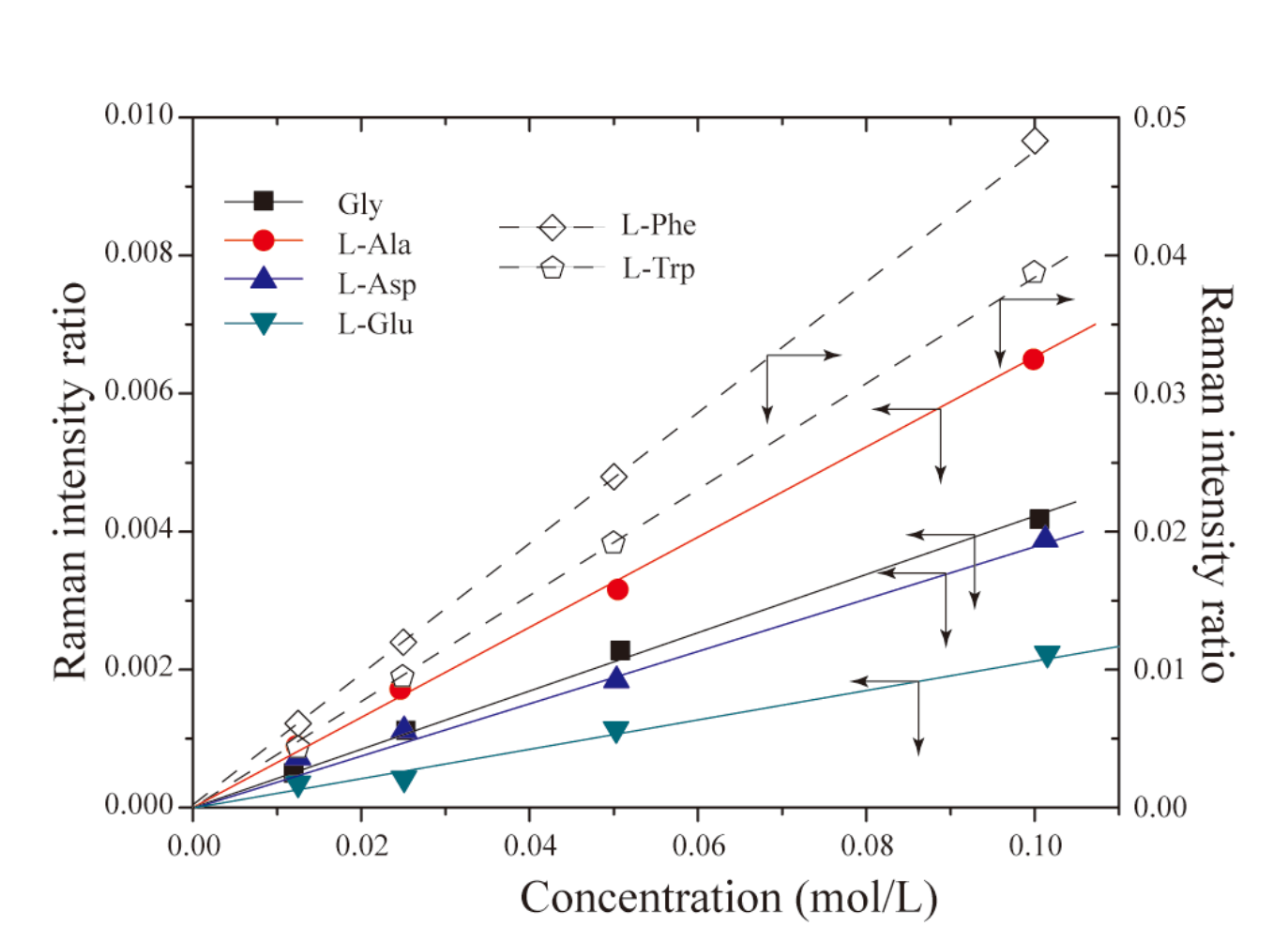


図3 アミノ酸の検量線

不飽和脂肪酸の定量分析

トランス脂肪酸は成人病の原因となる物質と言われており、2023年までに全廃することが勧告されている。今回、トランス脂肪酸であるエライジン酸とシス体であるオレイン酸の同時定量をラマンスペクトルで行なった。図4に種々の濃度のオレイン酸とエライジン酸の混合溶液のラマンスペクトルを示す。このスペクトルをPLS回帰で解析したところ、図5のように良いモデルを構築でき、このモデルを使うことにより定量できることを示した。

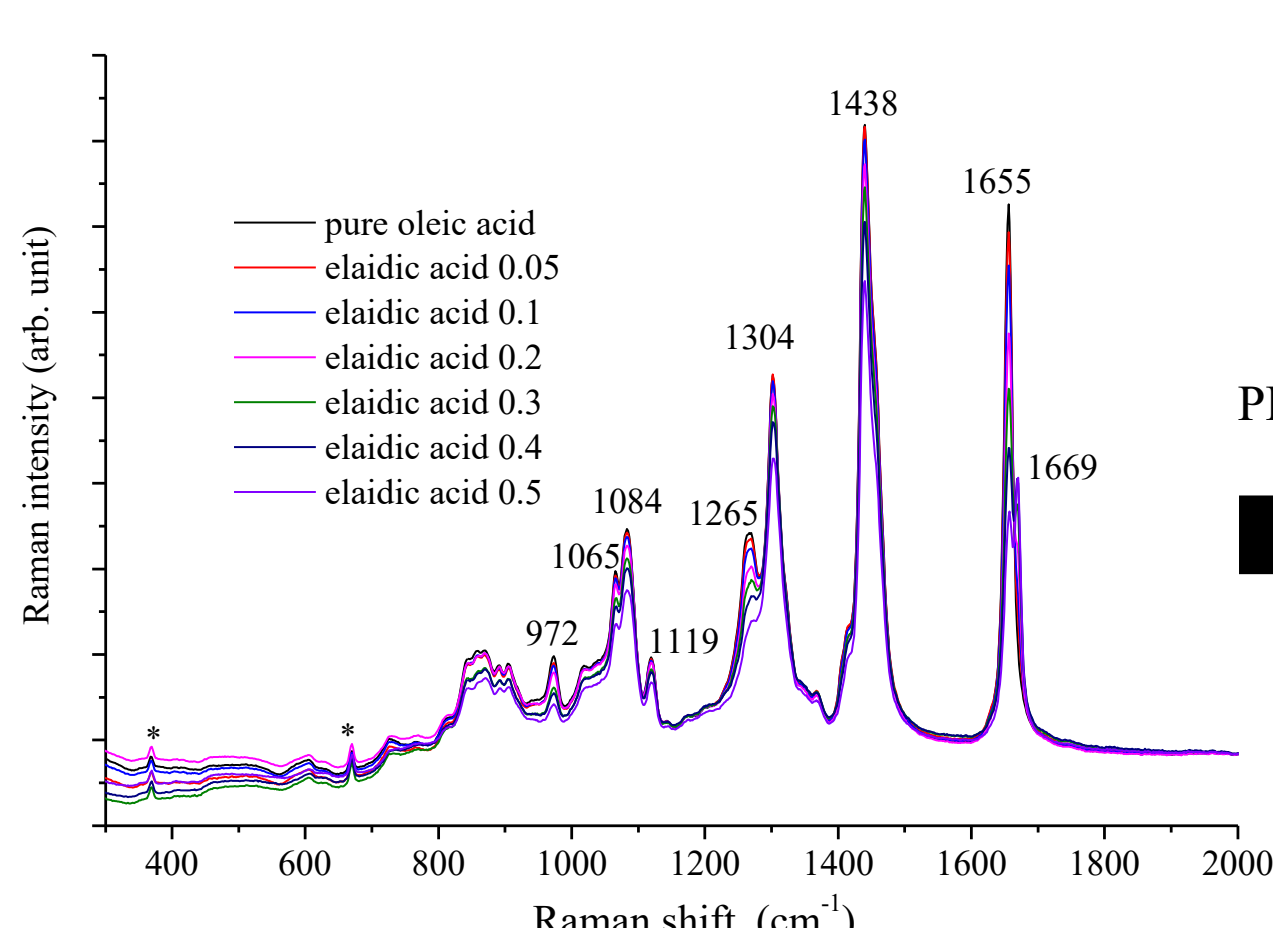


図4 オレイン酸とエライジン酸のラマンスペクトル

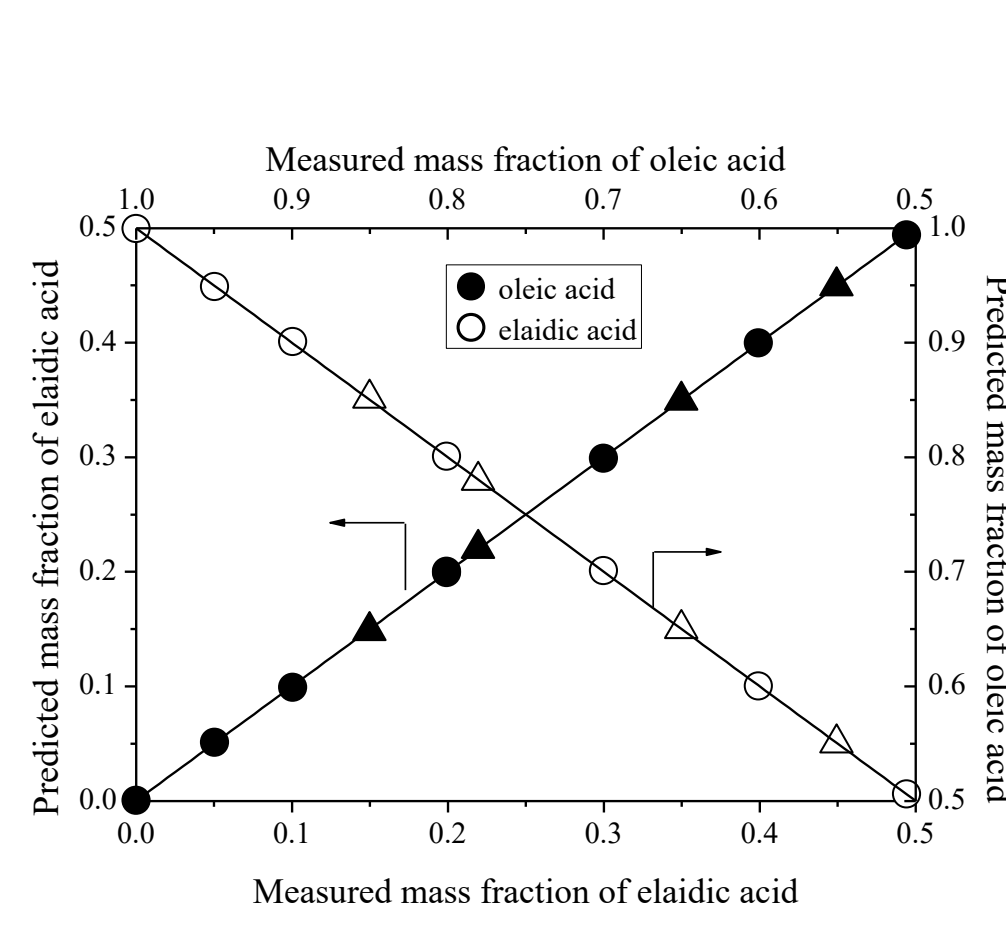


図5 PLS回帰による検量線

がんと通常細胞のラマンスペクトルの違い

通常細胞とがん細胞の組織片のラマンスペクトルを測定し、ピーク位置の違いや強度の違いについて調べた。Bio-Chain社製のヒトの脳の正常細胞と脳腫瘍のラマンスペクトルを測定し、主成分解析を行ったところ、図7のようになった。がん細胞のスコアは主成分2が大きい方に集まっており、これがどのようなスペクトルになるかをローディングスペクトルで確認したところ、図7のようになった。このスペクトルの差からがん細胞と通常細胞を区別することができる。

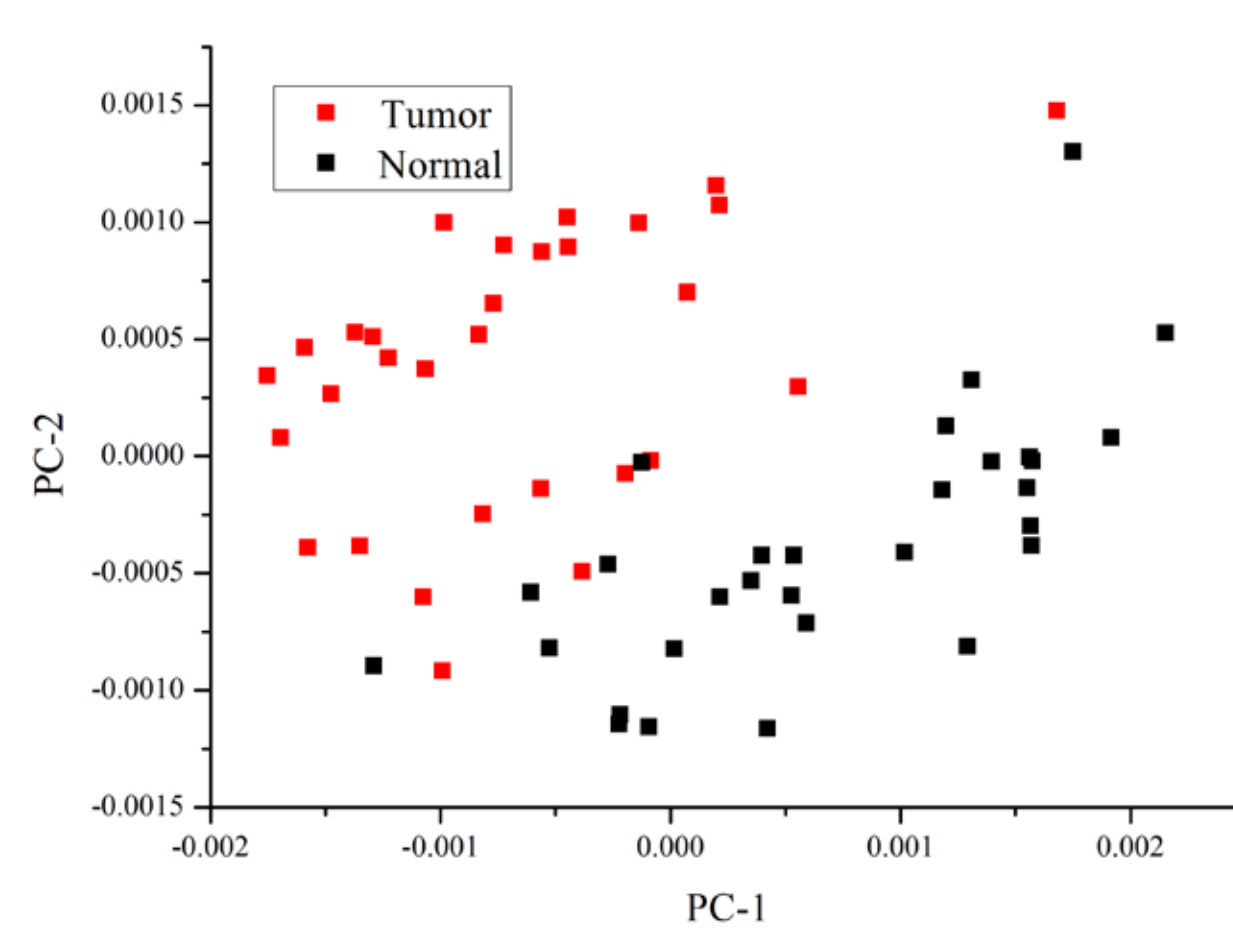


図6 脳腫瘍と通常細胞のスコアプロット

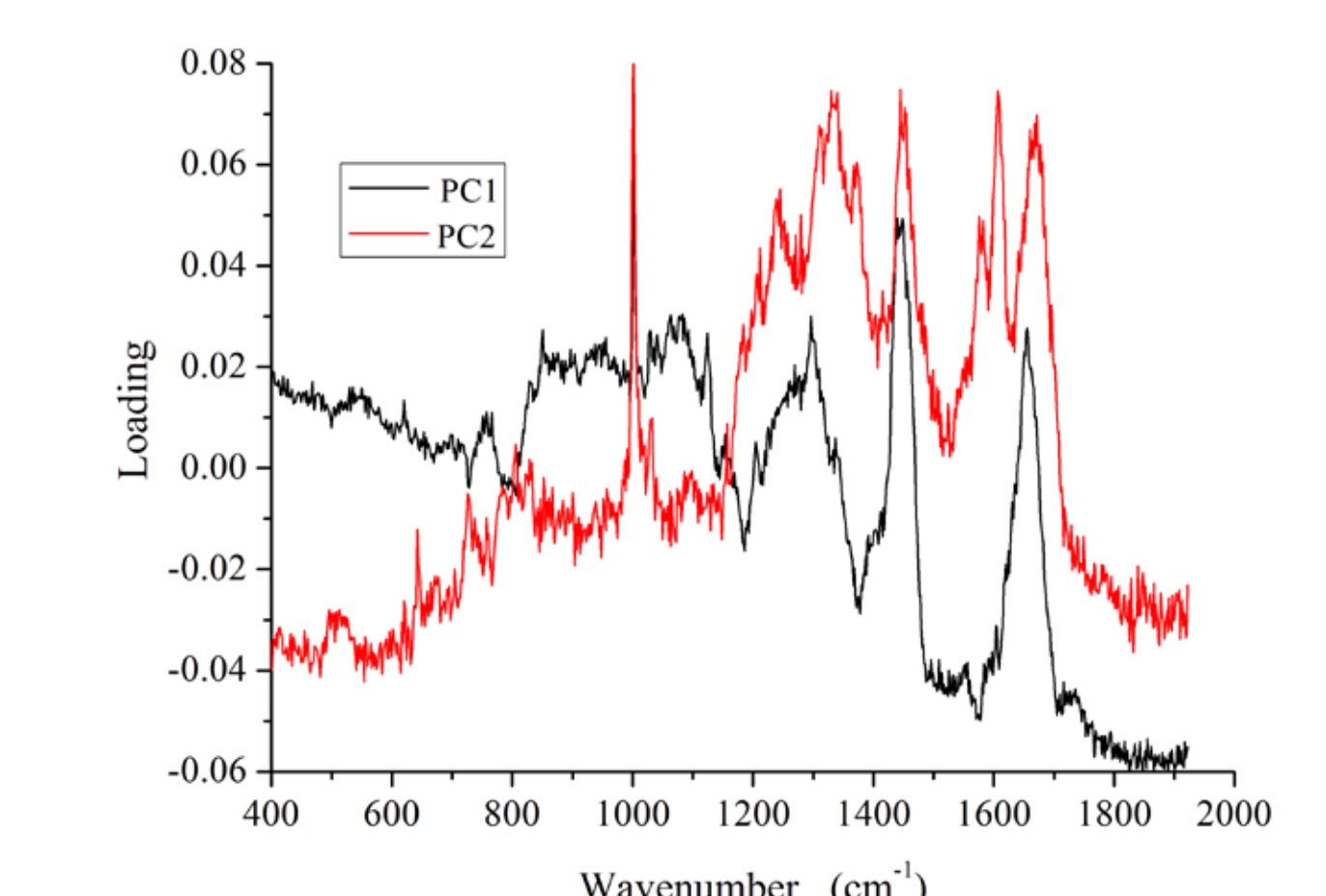


図7 ローディングプロット