

未来社会創造事業 探索加速型
「共通基盤」領域
年次報告書(探索研究期間)

令和3年度 研究開発年次報告書

令和2年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：藤田 克昌]

[国立大学法人 大阪大学 大学院工学研究科・教授]

[研究開発課題名：分子・細胞分析のための高感度ラマン分光技術の開発]

実施期間：令和3年4月1日～令和4年3月31日

§1. 研究開発実施体制

(1)「装置開発」グループ(大阪大学)

① 研究開発代表者:藤田 克昌 (大阪大学 大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

- ・ラマン分光光学系の設計、試作
- ・生体試料の計測、分析

(2)「分光分析」グループ(産業技術総合研究所)

① 主たる共同研究者:藤田 聡史 (産業技術総合研究所 産総研・阪大先端フォトニクス・バイオセンシングOIL、副ラボ長)

② 研究項目

- ・生体試料の作製
- ・生体試料の計測、分析

§2. 研究開発成果の概要

本研究では、細胞および分子の高感度なラマン分光分析を実現する光学システムの原理検証、およびその試作機の開発を行う。試作機を用いて、細胞分析における測定速度および測定感度の向上を定量的に評価する。加えて、実際、細胞や細菌の分析および同定に利用し、生細胞を利用する創薬や再生医療等での細胞評価技術、細菌感染の迅速検出技術への応用を目指したアプリケーション開発も行う。本年度は、これまでに試作した側方型照明ラマン散乱顕微鏡を用いたスフェロイド試料の観察と、試作した装置の高感度化、広視野化に向けた改善を行った。さらに、ラマンスペクトルの機械学習を用いた細菌検出のためのスペクトルデータベース構築、判別ソフトウェアの開発を行い、実際の細菌分光データに対する動作検証を実施した。また、単一細菌等の微小検体の高感度検出、またその無標識判別を可能とする測定条件の把握、および、高速測定を実現するための新たな分光光学系の設計と試作を行った。試作した微小検体検出用ラマン分光装置を用い、実験的に高い信号対雑音比を実現する計測法の原理検証を行い、その感度向上を定量的に評価した。アプリケーション開発においては、各種細胞スフェロイド内部の無標識分析に向けたラマン分光法の有用性を、実際に細胞スフェロイドの無標識観察結果をもとに検討した。生きたままでの蛍光染色が難しいスフェロイド内部においても、ラマン分光法を利用すれば、細胞種を無標識に判別しながら観察できることが確認された。

【代表的な原著論文情報】

K. Bando, S. Yabuuchi, M. Li, T. Kubo, R. Oketani, N. I. Smith, and K. Fujita, "Bessel-beam illumination Raman microscopy," *Biomed. Opt. Express*. 13 (6) 3161-3170 (2022).