

未来社会創造事業 探索加速型

「共通基盤」領域

終了報告書(探索研究期間)

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]

[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2年11月1日～令和5年3月31日

## § 1. 研究実施体制

### (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. 研究実施の概要

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、また細胞診断、再生医療、創薬分野で必要とされる無標識細胞評価へのラマン分光分析の実用性の評価を行った。実際に開発した装置を用いて、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とともに、実際に、細胞、細胞組織、およびバクテリアの同定および分析を試み、生細胞を活用する創薬や再生医療等での細胞評価技術、バクテリア感染の迅速検出技術への応用の可能性を検討した。厚みのある生体試料内部の無標識観察を目的として側方型照明ラマン散乱顕微鏡の開発を行い、従来法と比べ厚みのある試料内部の観察がより高感度、高精度に実施できることを実際の生体試料を用いて確認した。また、ラマン顕微鏡により各種スフェロイド試料を観察し、スフェロイド内部の細胞種や細胞状態の分別とその空間分布の把握がラマン分光分析により可能であることを示した。これらの結果から、生きて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。また、微小検体として各種バクテリアのラマン分光測定を行い、それらの検出に必要な測定条件を見積もるとともに、得られたラマン散乱スペクトルを活用したバクテリア検出のための機械学習ソフトウェア・分別ソフトウェアの開発を行った。微小検体の高感度分別を目的として低ノイズラマン分光分析装置の試作も行った。試作した分析装置において提案する手法の原理検証を実施し、従来法に比べた感度および測定速度の向上を定量的に評価した。

### 【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).