

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：革新的先端研究開発支援事業 (AMED-PRIME)
「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」
2. 研究開発課題名：生きた患者由来組織中の脂質組成を同定できる振動分光顕微鏡の開発
3. 研究開発代表者：長島 優（東京大学医学部附属病院 神経内科）
4. 研究開発の成果

患者様から採取した生検検体やそこから作成した iPS 細胞等の患者由来生体組織は、予め脂質分子に標識を施せないため、組織を生かしたまま脂質組成を調べることは従来極めて困難でした。本研究では、非標識下に脂質の種類と同定ができる振動分光技術を用いて、生きた患者由来組織中の脂質組成の空間分布を測定できる観測技術を開発し、脂質異常を来たす疾患の診断や治療法開発に実際に役に立つアプリケーション戦略を提案することを目標にしています。

平成 27 年度の開発成果は以下の通りです。

① 自発ラマン分光装置の開発

脂質を含む生体分子のラマンスペクトルデータベースを作成するための自発ラマン分光装置のための狭帯域レーザー光源を開発し、レーザー発振を確認しました。また、製作した狭帯域レーザー光源を顕微鏡に組み込み、自発ラマン分光顕微鏡を製作しました。光源から出た連続波レーザーを対物レンズでサンプルに集光した後、long pass filter で光源波長をカット、長波長側のラマン散乱光のみを光ファイバーで冷却 CCD 付分光器に導き、ラマンスペクトルを測定する仕組みです。今年度は装置のテストのため、試験的に方解石 (CaCO_3) やグリセオール のラマンスペクトルを測定し、既報告と同じスペクトル波形が得られていることを確認しました。この装置を基礎にして、生体分子としてバリエーションの多いタンパク質および脂質のラマンスペクトルを網羅的に測定できるシステムの構築を引き続き進めていきます。

② 非線形ラマン分光顕微鏡の開発

分子標識を行わずに、生きた生体組織中の脂質の種類と同定ができる非線形ラマン分光顕微鏡を開発しています。今年度は顕微鏡開発のために必要な光源の製作に着手しました。

③ 脂質ラマンスペクトルデータベース作成の準備

種類の多い脂質のラマンスペクトルを網羅的に測定し、データベースを作成するための一つの手段として、薄層クロマトグラフィーで分離精製した脂質サンプルのラマンスペクトルを直接測定できるシステムを構築しています。今年度は、まだ開発中の自発ラマン分光装置が二次元的なイメージング測定に対応していないため、薄層クロマトグラフィー基板上にプロットした脂質サンプルのラマンスペクトルを 1 ポイント測定する系を構築しました。測定スペクトルのデータを数値処理し、バックグラウンドの基板由来の自家蛍光・ラマン散乱光を除去するプログラムも同時に開発しました。