

特定の脂質タイプを判別する PRM-SRS 顕微鏡プラットフォーム

ジャスティン・マーフィー

ラマン顕微鏡をベースにしたイメージング手法は、脂質、そのサブタイプ、そしてそれらがヒトの健康や老化、疾患において果たす重要な役割について、長い間理解され得ていなかった暗号を解読できるかもしれない。

米カリフォルニア大サンディエゴ校 (University of California San Diego) の生物学チームが、最も複雑な生物学的環境においても脂質のサブタイプを識別できるイメージングプラットフォームを用いて、脂質の理解をより深めるための大きな一歩を踏み出した。これは非破壊的でラベルフリーのアプローチである。ラベルフリーのハイパースペクトルイメージング装置が1つあるだけで、細胞や組織内の複数の脂質サブタイプを同時に分類した初のものとなる。

このハイパースペクトル・イメージングプラットフォームは、特定の脂質タイプを識別する精度を高めるのに役立つ罰則付き参照マッチング (PRM) アルゴリズムと、分子振動結合に基づいて化学物質含有量を可視化する非線形手法である誘導ラマン散乱 (SRS) 顕微鏡を統合している。PRM-SRS システムを組み合わせることで、さまざまな臓器において特定の脂質のサブタイプを特定できる。

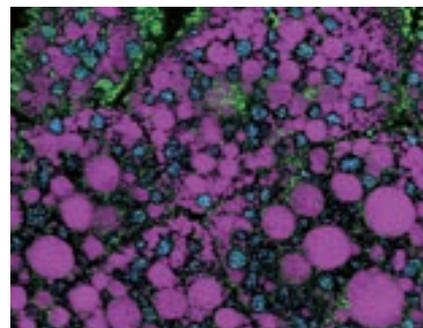
脂質は有機化合物の広いグループであり、脂肪やトリグリセリドを含む。蛍光ラベリングのような一般的に使われている方法では、脂質を正確に観察したり理解したりすることが難しい。既存の技術や従来の手法では、目的の分子をラベリングする必要があり、その後で分子に結合させたシグナルでイ

メージングする。しかし、このラベリングの過程において、客観的なイメージングを行うどころか、むしろ分子の状態を実際に変え、あるいは生理的状态を変えてしまうこともある。

PRM-SRS プラットフォームを開発したカリフォルニア大サンディエゴ校生物学助教のリンヤン・シー氏 (Lingyan Shi) は、「私がポスドクだったころ、ラマン分光法つまりラマンスペクトルプロファイルを用いて、ラベリングせずに異なる分子を直接検出する方法をいつも考えていた」と話す。「ラマン分光法では、それぞれの分子が独自のラマンスペクトルプロファイルを持つため、ラベルを付けたり何かを変えたりする必要なしに分子を区別できるという、すばらしいツールになり得る」。

スペクトルの「音波」

シー氏は、スペクトルのプロファイルは音波に似ていると説明する。「あなたの声にはあなたの音波があり、私の声には私の音波がある」と話す。「分子も同じだ。それぞれの分子が異なる音波を発する。その音波は、私たちがラマンスペクトルプロファイルと呼ぶもので、それぞれ固有の振動モードを持つ。振動周波数は、結局のところ、特定の分子ごとに異なるラマンスペクトルプロファイルとなる」。



シヨウジョウバエの脂肪体組織中の異なる脂質サブタイプを含む構造。脂質サブタイプは異なる分子組成をもち、異なる色で表されている (提供: リンヤン・シー氏)

PRM-SRS ハイパースペクトル・イメージングプラットフォームを用いた研究で、シー氏のチームは、ヒト腎臓における高密度リポタンパク質粒子を観察し、その後同定できた。また、哺乳類の細胞認識、成長、発生に重要なアミノアルコールであるスフィンゴシンや、ミトコンドリアの内膜にのみ存在するリン脂質であるカルジオリピンについて、ヒトの死後脳における細胞内分布も観察できた。

シー氏は、「ミトコンドリアは細胞内小器官であり、発電所だ」と話す。ミトコンドリアは、ATPを合成する工場である。ATPは、筋収縮や神経パルスの伝導など、生きた細胞の機能でエネルギーを提供する小分子だ。「膜には、キャリアルテインサブタイプとよばれる脂肪分子が多く存在する。これらの分子も固有のラマンスペクトルプロファイルを持つ。そのため、どのような分子を調べても、それぞれの分子に対して音波のような特定のラマンスペクトルが生成されるはずである」。

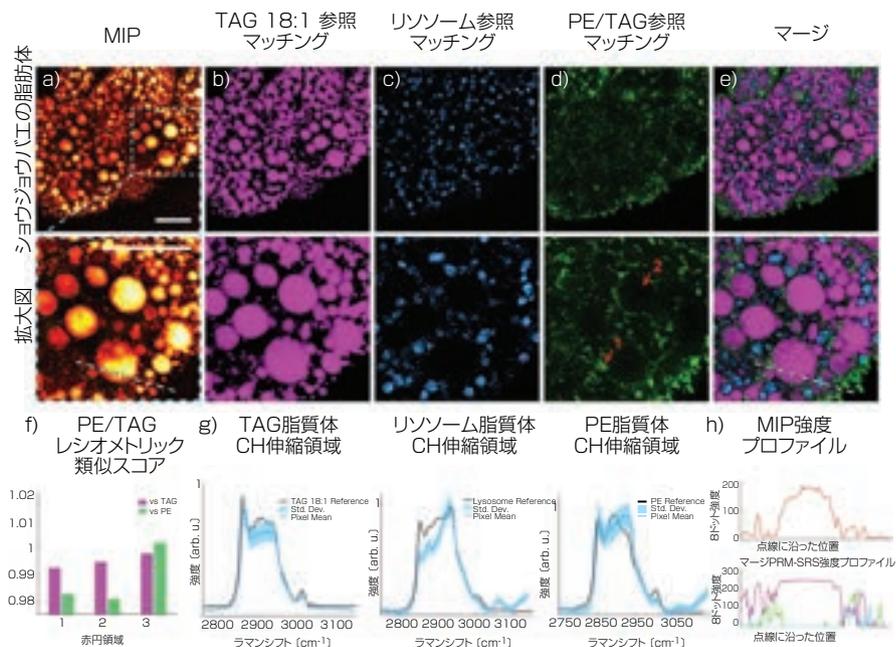
画像の各ピクセルは、シー氏が述べる混合スペクトルを持つ。混合スペクトルは、多くの異なる分子を含む最終的なスペクトルを形成する。これは、部屋の中で多くの声を聞くことに似ている。個々の声にはそれぞれの音波があるものの、全体としては1つの集合的なノイズである。PRM-SRSプラットフォームは、異なる分子の類似性を検出でき、それらの区別も可能だ。

シー氏は、「最終的には、多くの異なる分子、異なる脂肪分子、さらにはRNAやDNA、脂質、タンパク質分子を検出できる」と話す。

PRM-SRSの検証実験

カリフォルニア大サンディエゴ校のチームは、トリグリセリド(食物脂肪)、コレステロール、その他の脂質分子を調べた。シー氏によると、これらは特定の細胞小器官に最も多く存在する分子だという。

シー氏は、「これらは細胞機構にとって非常に重要であり、生命の複雑さを解明するために必要な多くの洞察に満ちた情報を説明するものだ」と述べる。「私たちのイメージングプラットフォームは、ヒトの健康や科学の進歩に大きな影響を与える可能性がある」。



ショウジョウバエの脂質体細胞のPRM-SRSイメージングが検出した異なる脂質サブタイプと、その細胞内分布(W. Zhang et al., Nat. Commun.; doi:10.1038/s41467-024-45576-6より)。

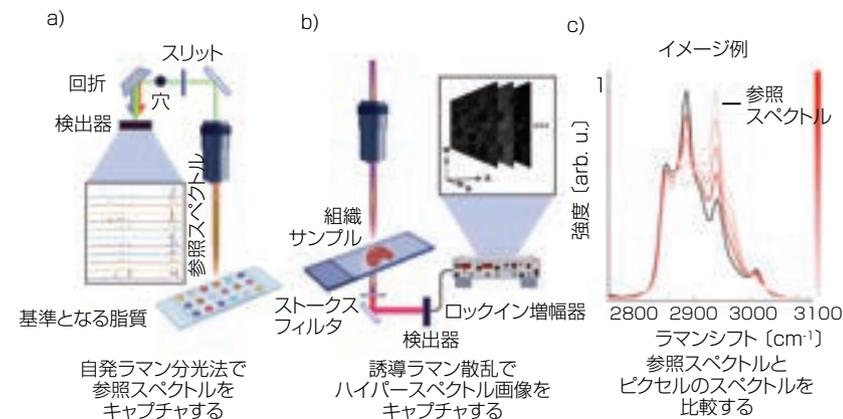
実験では驚くべき発見がいくつもあった。ヒトの死後脳の組織において、画像中の異なるピクセルが、当初考えられていたよりも高い類似性を示していたのだ。ハイパースペクトルイメージングでは、各ピクセルがラマンスペクトルプロファイルを生成する。ラマンスペクトルプロファイルは、ヒト脳組織からの異なる分子の混合物である

ことがわかった。

シー氏は、「驚くべきことに、分子1つ1つを検出したところ、神経系に局在する特殊な脂質グループであるスフィンゴ脂質や、あるいはコレステロールが、特定のピクセルに高濃度で存在することがわかった」と話す。「そして、ある種の脂肪分子は非常に高濃度で含まれていた」。

シー氏は、「以前は、脂質中の脂肪分子を検出する方法はなく、タンパク質の中でしか検出できないと思われていた」と続ける。「しかし、今では、脂質分子を直接可視化できる」。

PRM-SRSプラットフォームは、ラベルフリーのイメージングセットから複数の脂質サブタイプを同時に可視化する性能を持っており、脂質研究全体の範囲を広げている。腎臓や神経障害を含むさまざまな疾患の診断や予後を支援し、治療法の開発に役立つ可能性がある。



PRM-SRSには罰則付き参照マッチングアルゴリズムと誘導ラマン散乱が組み込まれている(W. Zhang et al., Nat. Commun.; doi:10.1038/s41467-024-45576-6より)