

HORIBA Application Note

ラマン分光法による非結核性抗酸菌 (*Mycobacterium abscessus complex*)の亜種判別

キーワード：ラマン分光法、多変量解析、主成分分析、菌種判別、NTM

非結核性抗酸菌(Non-Tuberculosis Mycobacterium : NTM)症は、結核菌(結核症)とらい菌(ハンセン病)以外の抗酸菌が肺に感染して起こる病気です。NTM菌は、土や水などの環境中に存在し、これまでに160種類以上の菌が報告されています。NTM菌は人から人へは感染しませんが、近年罹患率が急激に増加しているため感染メカニズムの解明が求められています。NTM症を引き起こす菌の一種である肺*Mycobacterium abscessus complex*(肺MABC)には3つの亜種が存在し、それぞれの対抗菌薬感受性が異なることから、これらを迅速かつ正確に鑑別する手法が求められています。ラマン分光法による分析は、侵襲性が低く、ラベリングなどの前処理をすることなく分析が可能のため、菌の分析・解析に有効な手法です。本アプリケーションノートでは、ラマン顕微鏡を用いて亜種判別をした例を紹介します。

ラマン顕微鏡 (XploRA PLUS) を使用し、肺MABCの3亜種 (*M. abscessus*、*M. massiliense*、*M. bolletii*) のコロニーをそれぞれスライドガラスとカバーガラスに挟んだ状態で測定したところ、脂質由来のラマンバンド(CH_2 対称伸縮振動モード： 2845 cm^{-1} 、 CH_2 非対称伸縮振動モード： 2880 cm^{-1})や脂質とタンパク質由来のラマンバンド(CH_3 対称伸縮振動モード： 2930 cm^{-1})の強度が3亜種で異なっていることが確認できました (図1)。

また、多変量解析の一種であり、主成分分析を行ってデータ次元を削減し二次元散布図上にプロットした結果からは、*M. abscessus*はグループ内でのばらつきが大きく明確なクラスターは確認できませんでしたが、他の2亜種は明確なクラスターを形成しており、ラマン分光法がMABC亜種判別に適用できる可能性が示されました (図2)。

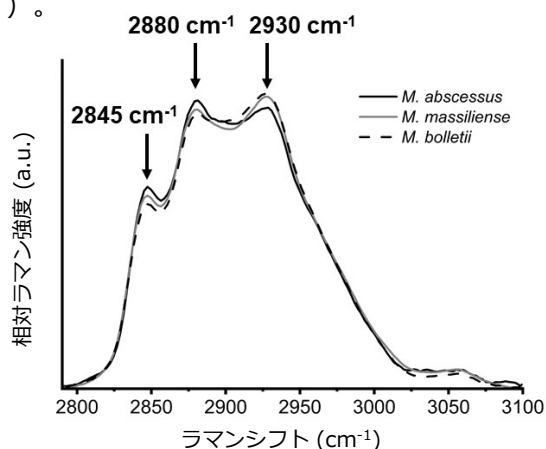


図1.正規化したMABC3亜種の平均ラマンスペクトル

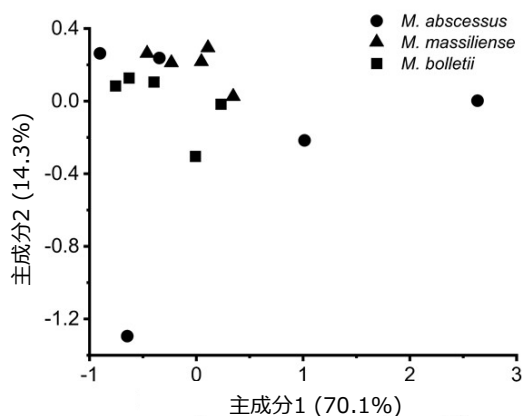


図2.主成分解析による3亜種のラマンスペクトルの二次元散布図

まとめ

侵襲性が低く、前処理不要なラマン顕微鏡を用いることで、MABC亜種判別に適用できる可能性が示されました。このほかにも生存環境の異なる細菌叢中微生物の判別など、ラマン分光を利用した細菌の解析事例が報告されており、今後幅広い分野で、ラマン分光法のさらなる活用が期待されます。

検体ご提供：国立感染症研究所 ハンセン病研究センター 星野仁彦先生

ラマン顕微鏡 XploRA PLUS

- ✓ 明・暗視野、偏光、微分干渉などの観察機能により物質の化学組成の同定、分子構造の解析に最適。
- ✓ 共焦点光学系を使った高速ラマンイメージングを実現
- ✓ 多彩なオプションに対応
- ✓ 研究・開発から品質管理まで幅広い用途に



倒立型顕微レーザーラマン分光測定装置 LabRAM HR Evolution INV

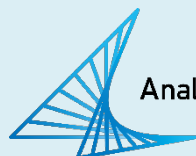
- ✓ 生体試料の分析に最適化した倒立型顕微鏡を統合した顕微ラマン分光装置
- ✓ 試料下面からラマン散乱光を取得でき、ミラースキャン機構DuoScanを使用することで、ディッシュ内の試料を静置した状態で分析が可能



分析のお問い合わせ

- リンク先のフォームにご記入の上、お問い合わせください。

<https://www.horiba.com/jpn/service/solution/contract-analysis/service-support-request/>



Analytical Solution Plaza

HORIBAグループは、10の国と地域に分析センターを17拠点展開しています。日本では東京と京都に分析を主要な業務とする“Analytical Solution Plaza”を設置しています。

株式会社 堀場製作所

〒601-8510 京都市南区吉祥院宮の東町2番地 075-313-8121
<http://www.horiba.co.jp>

株式会社堀場テクノサービス

本社/京都S.S. 〒601-8305 京都市南区吉祥院宮の東町2番地 075-313-8125

AP23_01_Raman