

論文審査の結果の要旨

氏名 内藤 康彰

本論文は、ラマン分光による単一出芽酵母生細胞(*Saccharomyces cerevisiae*)の物理化学的研究を主題として、9章から構成されている。

第1章では導入として、出芽酵母細胞と本研究で用いた時空間分解ラマン分光法について述べられている。出芽酵母細胞の項では、本研究で焦点を当てた液胞と”ダンシングボディ”について詳細に記述されている。時空間分解ラマン分光法の項では、他の生細胞研究手法と比較し、本手法の生細胞研究に対する優位性が述べられている。第2章では、出芽酵母細胞の培養条件、モデル化合物、共焦点顕微ラマン分光装置と測定条件について述べられている。単一出芽酵母生細胞の時空間分解ラマンスペクトルと時間分解ラマンイメージは、He-Ne レーザーを用いた632.8 nm 励起共焦点顕微ラマン分光装置により測定された。空間分解能は、面内で約250 nm、奥行き方向で約2 μm である。時間分解能は100 秒である。第3章では、単一出芽酵母生細胞の各オルガネラ(核、ミトコンドリア、液胞)とダンシングボディの空間分解ラマンスペクトルの測定および解析結果が記されている。本章で、ダンシングボディがポリリン酸塩結晶から形成されている事が示されている。ダンシングボディ形成過程の時空間分解ラマンスペクトルが第4章で議論されている。驚くべき事に、ダンシングボディは数分という早い時間で形成される事が明らかとなった。第5章では、ダンシングボディ形成に続いて起こる出芽酵母細胞自然死の発見について述べられている。レーザー照射の有無、培地の有無、位置固定剤の有無に関わらず観測した642 個全ての細胞で、この細胞死が起こった事が示された。第6章では、時間分解ラマンイメージングによりこの細胞死過程を分子レベルで追跡した結果が述べられており、ダンシングボディ出現と同時期にミトコンドリアの代謝活性が失われる事が示されている。生化学的手法では、ミトコンドリアの活性が失われたずっと後の、細胞壁崩壊時に細胞内を染色する事によって細胞死判定を行っている。しかし、時空間分解ラマン分光法では、ミトコンドリア代謝活性消失時という極めて早い段階において分子レベルで細胞死を判定できる事が示された。第7章では、液胞内に出現する他の動く顆粒”ダンシングボディ2”と”オートファジックボディ”について述べられている。オートファジックボディは、飢餓条件下において液胞内に出現する粒子である。オートファジックボディには最初は活性の高いミトコンドリアが含まれており、その後に活性が失われていく事が明らかされている。第9章には、全体のまとめが記述されている。

本研究において提出者は、従来の破壊を伴う生化学的手法や蛍光顕微法では困難であった

分子レベルでの生細胞の探索的研究、及び生細胞内生体分子の構造変化追跡の研究を、時空間分解ラマン分光法によって行った。特に、ダンシングボディ出現に伴う細胞自然死を発見し、その細胞死過程を時間分解ラマンイメージング追跡する事によって、従来の手法では不可能だった早期の細胞死判定を分子レベルで行う事ができた。その結果提出者は、時空間分解ラマン分光の手法が、生細胞の研究に対して非常に有用かつ強力である事を明確に示した。これらの業績は、物理化学と生化学にまたがった学際的研究分野を開拓しようという強い意欲と、丁寧に行われた実験に基づいており、高く評価される。

本論文第1章の一部、第2章の一部、第3章の一部、第5章の主要部分、第6章の主要部分は、Journal of Raman Spectroscopy に公表済み(東江昭夫、瀧口宏夫との共著)である。この論文では、論文提出者が主体となって実験および解析を行っており、その寄与が十分であるので、学位論文の一部とすることに何ら問題はないと判断する。

以上の理由から、論文提出者内藤康彰に博士(理学)の学位を授与することが適当であると認める。