

論文審査の結果の要旨

氏名 安藤正浩

本論文は、生細胞など光に敏感な生体試料を分子レベルで測定するための近赤外励起顕微ラマン分光装置の開発と、その応用について記述されており、全6章から構成される。

第1章では導入として、本研究の目的が生体機能の分子レベルの理解にあり、それには非破壊、非侵襲な手法を用い、生理的条件下での分析が重要であることが述べられている。既存の近赤外励起ラマン分光器は、感度が低く単一生細胞への応用が困難であることを踏まえ、新規な手法として、より高感度なマルチチャンネル顕微近赤外ラマン分光法が提案されている。また、応用対象であるシアノバクテリアについて、その機能・構造の理解が光合成の総合的な理解には重要であり、本手法が有力な分析手法となり得ることが述べられている。

第2章では、開発された1064 nm 励起マルチチャンネル顕微ラマン分光装置の詳細及びその性能について述べられている。近赤外イメージンテンシファイアを検出器に用い、また顕微鏡を含めた集光系全体を近赤外仕様に改良することにより、単一の生細胞にも応用可能な装置となった。本装置が面内0.7 μm 、奥行き3.1 μm の空間分解能を有しており、細胞内の空間分解測定に応用可能であることが示された。

第3章では、1064 nm 励起顕微ラマン分光の応用として、出芽酵母、及びシアノバクテリアの *in vivo* 測定の例が示されている。本装置により、単一の生細胞についても、十分なS/N比で近赤外励起ラマン分光測定が可能となった。また、既存の785 nm 励起ラマン測定との比較から、シアノバクテリアのような光に敏感な生細胞の測定には、本手法のような近赤外領域の長波長励起が不可欠であることが示された。

第4章では、シアノバクテリア生細胞の空間分解測定に応用した結果が示され、さらに得られたラマンバンドの帰属についての考察が述べられている。シアノバクテリアに含まれる光合成色素である、カロテノイド、クロロフィル、フィコシアニンのラマンスペクトルとの比較、また単離したチラコイド膜のラマンスペクトルとの比較から、シアノバクテリアから得られるラマンバンドの大多数は光合成色素の何れかに帰属されることが確認された。

第5章では、シアノバクテリア生細胞のラマンイメージを構成し、細胞の構造、機能との関連を考察している。ラマンイメージにより、細胞中に含まれる3種類の光合成色素それぞれの分布が明瞭に可視化され、特にカロテノイドが他の色素と異なる分布を示していることが確認された。さらに、ラマンバンドのピークシフトの考察から、異なる分子構造を有したカロテノイドが局在化していることも可視化された。さらに、この局在化はクロロフィルやフィコシアニンの濃度分布とも強く相関があることが確認され、生体内でのカ

ロテノイドの特異な機能との関連について論じられている。

第6章は以上の研究成果のまとめである。

本研究により、生細胞の空間分解測定に応用可能な 1064 nm 近赤外励起顕微ラマン分光手法が開発され、これまで不可能であった光に敏感な単一生細胞の分子レベルでの計測、解析が可能となった。非破壊・非侵襲で分子の分布、構造情報を得ることは、生理的条件下での生体機能の解明には不可欠である。本研究で行ったように、それがシアノバクテリアのような光合成生物でも可能となったことは、本手法が光合成機構の総合的な理解へ向けた新しいアプローチとなることを明瞭に示している。このような新規の観測手法の開発とその有用性を提示した本論文の内容は高く評価できる。

本論文第2 - 5章の主要部分は、*Applied Spectroscopy* 誌に受理済み、公表予定（杉浦美羽、林秀則、濱口宏夫との共著）であるが、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、論文提出者安藤正浩に博士（理学）の学位を授与することが適当であると認める。