

# 論文審査の結果の要旨

氏名 柿 田 穰

本論文は、ラマンスペクトルを用いてミトコンドリア内のシトクロムの酸化還元状態を定量的に評価し、ミトコンドリアの呼吸活性とシトクロムの酸化還元状態の相関を定量的に見積もる新しい方法論を提案するもので、全7章から構成される。

第1章では導入として、本研究の対象であるミトコンドリアの重要性と機能、シトクロムの特徴と役割、手法である共鳴ラマン分光の概要が述べられている。また、本論文で提案する手法が、ミトコンドリアの活性を評価する有力な分析法となり得ることが述べられている。

第2章では、細胞培養、ミトコンドリアの単離、及びラマンスペクトルの取得など実験操作について述べられている。シトクロムの酸化型、還元型の標準溶液を市販の精製試料を用いて作成し、標準共鳴ラマンスペクトルを得たこと、またその標準共鳴ラマンスペクトルの特徴的なバンドや強度について述べられている。

第3章では、単離したミトコンドリア内のシトクロムの含量比と成長曲線の関係について述べられている。細胞分裂頻度の最も活発な時にシトクロムの含量比が最も高くなることを見出された。また、得られた共鳴ラマンスペクトルが4つの標準スペクトルで非常によく表現でき、4成分の比を求めることで、ミトコンドリア内のシトクロムの酸化還元状態が定量的に求められることが示された。

第4章では、単離したミトコンドリアと生きた酵母中のミトコンドリア中のシトクロムの酸化還元状態を比較している。生細胞中のミトコンドリアでは観測されなかったシトクロムの酸化型が単離したミトコンドリアでは確認され、呼吸活性を与えると減少する結果が示された。標準スペクトルと比較した結果、呼吸活性を与えるとシトクロムcの酸化型が大きく減少することが確認された。

第5章では、動物細胞中のシトクロムの酸化還元状態の分布イメージを作成し、その栄養素の有無による違いを考察している。分布イメージにより、細胞中に含まれる2種類のシトクロムそれぞれの酸化還元分布が明瞭に可視化され、生細胞中ではシトクロムcは還元型であることが確認された。さらに、無栄養の環境下に放置した場合は、シトクロムcの酸化型が徐々に増加していくことが確認された。

第6章は第4章と第5章の結果の比較と改善点について述べている。両結果共にシトクロムcの電荷の収支が合わないことをとりあげ、この原因として電子リークや中間体の可能性を議論している。まだ不十分ではあるが、提案された手法がミトコンドリア内の電子の流れを定量化し得ることが述べられており、さらなる研究の発展の可能性が示されている。

る。

第7章は以上の研究成果のまとめである。

本研究により、生細胞内及び単離されたミトコンドリア中の異なる2種類のシトクロムの酸化還元状態を定量的に測定することが可能となり、これまで不可能であった生細胞中の酸化還元状態の計測、解析が可能となった。この結果、呼吸活性と酸化還元状態が密接に相関することが明らかとなった。非破壊・非侵襲で、単離したオルガネラから生細胞中までの測定が可能な新しい方法論の開発と、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4章の主要部分は、**Journal of Biophotonics** 誌に公表済み（Venkatesh Kaliaperumal、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、論文提出者柿田穰に博士（理学）の学位を授与することが適当であると認める。