

はじめに 生命を分子レベルで解明することは、分子科学の究極の目標の一つである。生体は超高次分子複合体であり、そこで起こる様々な動的な生命現象を分子レベルの素過程に立ち戻って調べるには、時間と空間を分解した分子計測手法の確立と、物理化学的視点に基づく分子構造、ダイナミクスの解析が必須である。演者らは、時間と空間を分解したラマン分光により、生きた酵母単一細胞中の生命現象を分子レベルで解析する研究を展開している。

ラマン分光による細胞分裂の分子レベル追跡

図1は、分裂周期のM期からG2期に至る、生きた分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) の中心部 (右側のイメージ中赤丸で囲んだ領域) の時空間分解ラマンスペクトルである。M期の分裂しかかった核のスペクトル (0min) は、主として蛋白質のバンドから構成されている。それが時間とともに変化し、ミトコンドリアの2重膜由来のリン脂質の極めて強いバンドを示す中間的スペクトル (11-31min) を経て、S期の多糖類のバンドからなる隔壁のスペクトル (62min) に変化し、最終的にG2期の細胞壁のスペクトル (72min) となった。この実験は、生きた細胞の分裂過程を、染色等の操作なしに、真の *in vivo* 条件かつ分子レベルで追跡した初めての例である。¹⁾

生命のラマン分光指標の発見 図1のラマンスペクトルには、既知の生体物質には帰属できない強いバンドが 1602cm^{-1} に観測されている。この 1602cm^{-1} のバンドを与える分子種はミトコンドリア内に存在し、ミトコンドリア内の代謝活性と深く関わっている。観察中の分裂酵母の培養液にKCNを加えて呼吸を阻害し、その後のラマンスペクトル変化を調べた (図2)。KCN添加後数分で 1602cm^{-1} のバンドが急速に強度を失い、36分後には完全に消失した。一方、 $1655, 1446, 1300\text{cm}^{-1}$ のリン脂質のバンドは、11分までは殆ど変化しないが、その後徐々に幅が

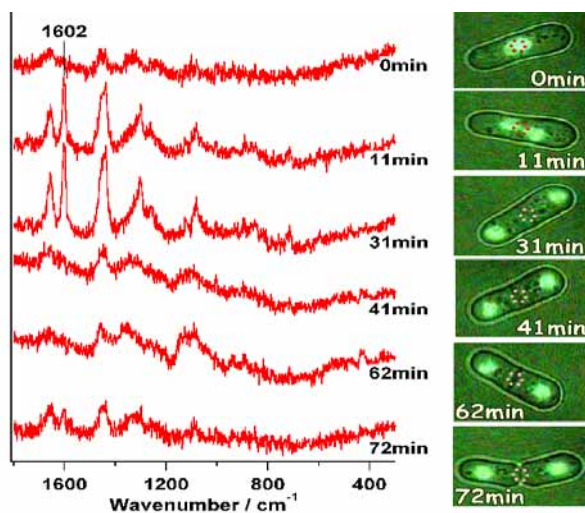


図1．細胞分裂の時空間分解ラマンスペクトル

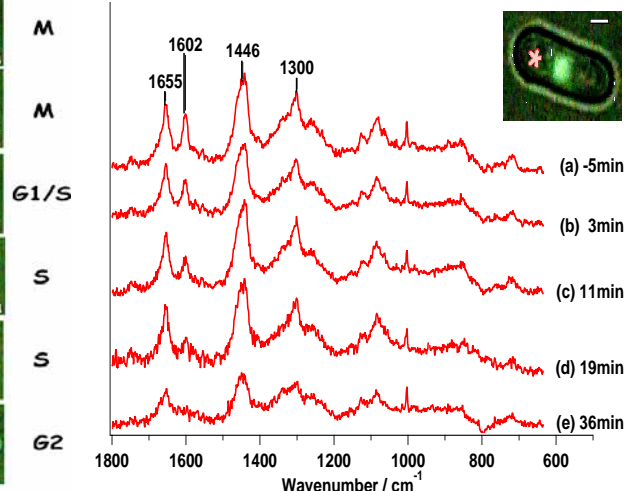


図2．KCNによる呼吸阻害の効果

広がり、形が崩れた。これらの変化は、呼吸阻害によるミトコンドリア内の代謝活性の低下と、それに続くミトコンドリア膜構造の崩壊を示しているものと考えられる。図2のスペクトル変化は、呼吸阻害による酵母の細胞死の初期過程を、分子レベルで捉えたものである。そこで、筆者らは 1602cm^{-1} のバンドを「生命のラマン分光指標」と呼んでいる。^{2,3)}

ダンシングボディーの出現と細胞の自然死 飢餓状態の出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の液胞に Dancing Body (DB) と呼ばれる顆粒が出現すると、その後液胞が潰れ細胞内が無秩序になり、最終的に細胞死に至ることを見出した。この細胞死過程を時間分解ラマンイメージングにより追跡した結果を図3に示す。“生命のラマン分光指標”のイメージから、0分および5時間50分後では、ミトコンドリアが活発に代謝活動を行っていることがわかる。6時間後、ミトコンドリアの代謝活性が著しく低下し、DBが突如出現する。しかしながら、ミトコンドリアの分布に相当する 1440cm^{-1} のラマンイメージに目立った変化は無い。8時間41分後にはDBがブラウン運動を停止する。この段階ではミトコンドリアの代謝活性は完全に停止しており、細胞はエネルギーを生産していない。しかし、ミトコンドリアとタンパク質の物質分布は依然変化していない。19時間37分後には、細胞内のリン脂質、ポリリン酸、タンパク質は分解され、完全に乱雑に分布している。生化学における細胞死の判断は、このさらに後の段階で、細胞壁が崩れた後の染色によって行われる。時間分解ラマンイメージを用いれば、これよりずっと早い初期段階で細胞死を判定することが可能である。このように、時間と空間を分解したラマン分光によって、生命の最小単位である細胞の生と死を分子レベルで論ずるための足がかりが得られた。⁴⁾

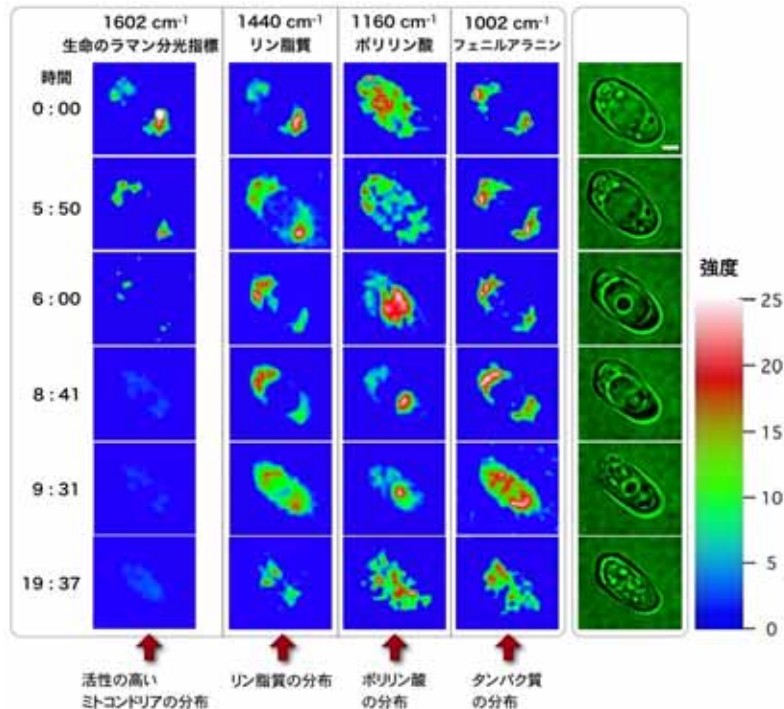


図3 . 飢餓条件下の出芽酵母の自然死過程のラマンマッピング追跡

参考文献

- 1) J. Raman Spectrosc., **34**, 1-3 (2003).
- 2) J. Raman Spectrosc., **35**, 525-526 (2004).
- 3) Biochemistry, **44**, 10009-10019 (2005).
- 4) J Raman Spectrosc **36**, 837 (2005).