

細胞の動的・高次構造体
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

梶本 真司

東北大学大学院薬学研究科
准教授

細胞内の水を用いた細胞内微小環境の定量評価法の確立と応用

§ 1. 研究成果の概要

2021年度には、ブリルアン/ラマン顕微鏡を導入し、ブリルアンスペクトルイメージとラマンスペクトルイメージの同時取得を可能にした。特に、ラマンスペクトルの高波数側に現れる水の O-H 伸縮振動バンドと指紋領域に現れる生体分子のラマンバンドを同時に取得することで、水のラマンバンドを内部標準とした生体分子の各バンド強度からの濃度定量を可能にした。この顕微鏡を用いて、マチャドジョセフ病の原因タンパク質として知られている ataxin-3 の液滴の相挙動の変化を追跡した。PEG 溶液と混合することで液滴を形成した ataxin-3 について、液滴形成直後と室温程度で 3 日間インキュベートした後の液滴のブリルアンスペクトルを比較すると、調整直後は周囲の培地と同様に 8 GHz 付近の位置にピークが観測されたのに対して、3 日後には 8 GHz 付近のピークだけでなく、より高波数側にもピークが観測された。さらに、水のラマンバンドに対する amide I バンドの強度の変化から液滴内の ataxin-3 の濃度が時間と共に高くなっていること、amide-I のピークシフトから 2 次構造変化が起こっていることが分かった。これらの結果から、2 次構造変化を含む液滴から凝集物/線維への相転移を、濃度やバルクとしての硬さの変化と同時に追跡することに成功したと結論した。

また、細胞への酸化ストレスに伴って形成するストレス顆粒について、近赤外蛍光イメージングとラマンイメージングを用いて観測した。特に、酸化ストレスを与えた後に固定化处理した細胞において、G3BP1-iRFP タンパクの強い近赤外蛍光が観測された細胞質内の領域で、周囲に比べ、核酸やタンパク質のラマンバンドの強度が強いスペクトルが得られた。780 cm^{-1} に観測される核酸のピリミジン環のバンドを用いてラマンイメージを取得することによって、ストレス顆粒を可視化することに成功した。さらに、生細胞において得られたラマンイメージと比較することによって、ストレス顆粒の構成成分について考察した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Observation of liquid-liquid phase separation of ataxin-3 and quantitative evaluation of its concentration in a single droplet using Raman microscopy”, *Chem. Sci.* **12**, pp. 7411-7418, 2021
 - 2) “Label-free tracking of intracellular molecular crowding with cell-cycle progression using Raman microscopy”, *Chem. Phys. Lett.* **779**, 138843, 2021
- “Regulation of cell volume by nanosecond pulsed electric fields”, *J. Phys. Chem. B* **125**(38), pp. 10692-10700, 2021