

細胞の動的高次構造体  
2020年度採択研究代表者

2022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

## 研究成果の概要

水分子をプローブとしてラマン・ブリルアンイメージングを行うことにより、細胞内で起こる液液相分離を定量的に評価する手法を確立し、生理現象や外部摂動に伴う細胞内液液相分離を追跡し、細胞内反応の全貌を解明することが本研究の目的である。2022 年度の研究では、細胞への酸化ストレスによって形成するストレス顆粒について、ラマン顕微鏡を用いてその構成成分の濃度を調べた。近赤外光領域に蛍光を発する iRFP-G3BP1 を発現した培養細胞を用い、近赤外光蛍光イメージングによってストレス顆粒の場所を特定し、その周囲のラマンスペクトルイメージを取得することで、生細胞内におけるストレス顆粒のラマンイメージングに成功した。得られたストレス顆粒のラマンスペクトルを周囲細胞質領域のラマンスペクトルと比較すると、それぞれのラマンバンドの強度から、ストレス顆粒においては RNA の濃度が周囲細胞質よりも 20%程度高い一方で、タンパク質の濃度はほとんど周囲と変わらず、脂質は排出され濃度が低いことがわかった。また、生体分子の C-H 結合に由来するラマンバンドと水の O-H 結合に由来するラマンバンドの強度比をストレス顆粒内と周囲細胞質とで比較したところ、ストレス顆粒内外で生体分子の総濃度、つまり夾雑度があまり変わらないことがわかった。この結果は、細胞内液液相分離によって形成されたストレス顆粒が高密度な生体分子の塊として形成されたのではなく、特定の生体分子が集まると同時に他の生体分子が排出されることで形成され、その密度は周囲とあまり変わらないことを示している。一般的な緩衝溶液中における液液相分離では、周囲に比べて高密度にタンパク質や核酸などが濃縮した液滴が観測されるが、夾雑環境にある細胞内での液液相分離過程では、特定の生体分子の集合・濃縮だけではなく、周囲の生体分子の排出も同時に起こり、夾雑環境の中での生体分子の濃度分布の変化として液液相分離が起こることが分かった。さらに、水のラマンバンドを強度標準として用いて RNA 水溶液のラマンスペクトルを規格化し、ピリミジン環由来のバンド強度の濃度依存性から検量線を作成することで、細胞内の各オルガネラにおけるピリミジン環のバンド強度から各領域における核酸の濃度をその場定量することに成功した。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Concentration Quantification of the Low-Complexity Domain of Fused in Sarcoma inside a Single Droplet and Effects of Solution Parameters”, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 13, No. 24, pp.5692-5697, 2022