

独創的原理に基づく革新的光科学技術の創成
2020 年度採択研究代表者

| |
|------------------|
| 2021 年度 年次報告書 |
|------------------|

川田善正

静岡大学 電子工学研究所
教授

光と電子の融合による超高分解能細胞機能イメージング・制御

§ 1. 研究成果の概要

電子線を生細胞に高い位置精度で照射するシステムを構築した。ピエゾステージを組み込むことで、5nmの電子ビームの照射位置精度を実現した。また、電子線を照射した神経細胞では、細胞内の Ca^{2+} が上昇することを見出した。また、電子線の照射ドーズ量が $10^4\text{e}^-/\text{nm}^2$ 以下であれば、細胞死が生じないことがわかった。

微生物への電子線の照射では、真空と大気を分離するSiN基板と微生物細胞が密着する必要がある。そこで、微生物細胞を新SiN基板上に固定する条件検討を実施した。細胞観察用に使用されているL-ポリリジンを用いて微生物細胞の固定具合および細胞の生理状態について蛍光顕微鏡を用いて観察した。その結果、L-ポリリジン塗布した系では微生物細胞の固定自体は良好であった一方で、予想以上に死細胞の割合が高く、微生物細胞の固定には不適と判断した。次に培地成分を含む軟寒天を用いて微生物細胞を被覆した。損傷細胞あるいは生細胞の識別試薬により細胞を染色し蛍光顕微鏡観察を実施した結果、損傷細胞の割合は生細胞の高々10%程度に抑えることが可能であり、また、基板上で4時間培養後、細胞の増殖および損傷細胞の割合が増えることが無かったことから、微生物細胞の固定観察に適していると判断した。

さらに、モンテカルロシミュレーションにより、電子線の散乱による拡がりや発生する活性酸素、温度上昇について評価した。電子線は、水中で最大直径800nm程度まで拡がることがわかった。活性酸素も同様の範囲で発生する。また、水の温度上昇は数度程度であることを明らかにした。

また、電子ビーム励起(EXA)超解像光学顕微鏡のための $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZnO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 蛍光薄膜について検討した。ZnO蛍光薄膜の平坦性を向上させるために Al_2O_3 をバッファー層として挿入した。その結果、発光の空間的な均一性が向上し、蛍光薄膜の発光強度は2倍になった。

§ 2. 研究実施体制

(1) 川田グループ

- ① 研究代表者: 川田善正 (静岡大学 電子工学研究所 理事/教授)
- ② 研究項目
 - ・分解能評価のための数値解析手法の開発
 - ・細胞のイメージング解析・制御のための基礎システムの開発

(2) 二又グループ

- ① 主たる共同研究者: 二又 裕之 (静岡大学 グリーン科学技術研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・電子照射のための微生物培養装置の開発

(3) 小粥グループ

- ① 主たる共同研究者: 木村小粥啓子 ((株)アプコ 代表取締役)
- ② 研究項目
 - ・電子線照射システムの設計・開発

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Hot-electron emission enhancement by deep UV surface plasmon resonance on an aluminum periodic disk-hole array”, Optical Materials Express, vol. 11, No. 7, pp. 2278-2287, 2021
- 2) “Development of a direct point electron beam exposure system to investigate the biological functions of subcellular domains in a living biological cell”, micron, vol. 155, pp.103214, 2022