

2024 年度年次報告書

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

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

主たる共同研究者:

木村(小粥) 啓子 ((株)アプコ 代表取締役)

二又 裕之 (静岡大学 グリーン科学技術研究所 教授)

研究成果の概要

神経芽細胞腫細胞株 SH-SY5Y の細胞体および神経突起に電子線を照射し、照射位置と照射回数を変化させて Ca^{2+} 応答を評価した。加速電圧を 5 kV、照射電子密度を 1×10^4 electrons/nm² に設定して実験を実施した。繰り返し照射の場合も、総電子線量が単発照射と等しくなるよう各電子パルスの照射時間を調整した。細胞体の応答は照射回数に関わらず持続的な Ca^{2+} 濃度上昇が確認され、神経突起では一過的な上昇や Ca^{2+} 濃度の振動が観察された。一方で、細胞体への電子線刺激では、神経突起への刺激と比較して、 Ca^{2+} 濃度の最大変化量が有意に大きく、また Ca^{2+} 濃度の上昇が持続する時間も長いことが確認された。これらの結果から、電子線照射による細胞応答が照射位置や照射回数に依存して多様に変化することが明らかとなった。今後は、加速電圧や照射間隔の条件検討、特定の構造への照射、そして特異的蛍光染色法の導入を通じて、応答メカニズムのさらなる詳細解析を進める予定である。

微生物代謝の制御技術を開発するために、解明されていない非致死量の電子線が微生物細胞に及ぼす作用について解析した。非致死量の電子線(加速電圧 25 kV、ビーム電流 2 μA 、照射時間 30 秒)を大腸菌 MG1655 および BL21(DE3)に照射した。細胞膜透過性試薬 NPN、核酸染色試薬 DAPI、呼吸活性を指標とした蛍光試薬 CTC により、電子線照射による細胞の形態や生存率の変化を評価した。NPN 染色により全細胞の膜に損傷が確認された。DAPI 染色により DNA の分配異常が確認され、CTC により呼吸活性には影響を及ぼさないことが示された。今後、蛍光プローブを用いた活性酸素種による酸化還元状態の解析と SOS 応答・遺伝子変異解析により、電子線照射に伴う細胞形態変化のメカニズム解明を進める。

【代表的な原著論文情報】

- 1) M. Kretkowski, K. Hosomi, H. Futamata, W. Inami, Y. Kawata, Fast Sample Switching Mechanism for Atmospheric Scanning Electron Microscopy and Electron Beam Irradiation Systems of Living Cells. *Acta Phys. Pol. A*, 146(4) pp.382 (2024) <https://doi.org/10.12693/APhysPolA.146.382>
- 2) Y. Tanaka, A. Ono, W. Inami, Y. Kawata. Silicon plasmonics for enhanced responsivity of silicon photodetectors in deep-ultraviolet region. *Physical Review Letters*, (2025) Accepted.
- 3) A. Nakamura, S. Shiba, K. Hosomi, A. Ono, Y. Kawata, W. Inami, Development of a localized surface plasmon-enhanced electron beam-pumped nanoscale light source for electron beam excitation-assisted optical microscopy. *MICROSCOPY*, 74(1) pp.71-77 (2024). <https://doi.org/10.1093/jmicro/dfae043>
- 4) K. Khakurel, K. Hosomi, W. Inami, K. Yoshimasa Non-invasive nanoscale imaging of protein micro and nano crystal for screening crystallization conditions. *Journal of Applied Crystallography*, 57, pp.1907 – 1912 (2024). <https://doi.org/10.1107/S1600576724010124>
- 5) Y. Arashi, H. Mochihara, H. Kubota, K. Suzuki, Y. Chiba, Y. Kato, T. Kogure, R. Moriuchi, H. Dohra, Y. Tashiro, and H. Futamata Rechargeable Biomineral Induced by Sulfate-reducing Bacterium *Nitratidesulfovibrio* sp. Strain HK-II. *Microbes Environ.*, (2025) Accepted.