

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

2022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

主たる共同研究者:

木村(小粥) 啓子 ((株)アプロコ 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

これまでに開発した生細胞への電子線照射装置を用いて、細胞への電子線照射による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇メカニズムを検討した。細胞質の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇する機序は、細胞外液に含まれる  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞質へ流入する場合と、細胞内で  $\text{Ca}^{2+}$  を格納している小胞体等から  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞質へと放出される場合に大別できる。そこで、イオノマイシン灌流時の細胞に電子線を照射した場合の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の時間変化を測定した。その結果、イオノマイシン灌流時の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の立ち下がりにはイオノマイシンがない場合に比べ緩やかになった。これは、外部から細胞内に  $\text{Na}^+$  が流入し、細胞内外の  $\text{Na}^+$  濃度勾配が緩やかになり、交換輸送タンパク質による  $\text{Ca}^{2+}$  の排出が減少したためである。また、外液に  $\text{Ca}^{2+}$  が含まれず、 $\text{Ca}^{2+}$  キレーターが添加されている場合、電子線を照射しても、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は上昇しなかった。さらに、細胞膜損傷を蛍光試薬により評価し、膜が損傷していることを確認した。これらの結果より、電子線照射による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇は、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の細胞内への流入によるものであることがわかった。

昨年度末より電子線照射のための微生物培養装置を開発し、これまでに観察された電子線照射による細胞伸長現象の再現に成功した。電子線照射した細胞の伸長現象を解明する一環として、照射前後の細胞内活性酸素種 (ROS) の生成について解析した。電子線照射細胞内の ROS 動態のモニタリングの結果、細胞内では少なくとも 2 時間は ROS 濃度が通常より高い状態にあり、ROS 種の変化も見出された。更に応用研究に向けた予察研究として、プラスミドの接合伝達頻度に及ぼす影響を評価した結果、電子線照射条件下では減少傾向を示した。以上より、電子線照射に伴う細胞内の多様な ROS の生成が、微生物細胞の生理学的小および遺伝学的性質に影響を及ぼしていると示唆された。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “High resolution imaging of ultrafine bubbles in water by Atmospheric SEM-CL”, *Micron*, vol. 16, No. 2, pp. 103351-2287, 2022
- 2) “Autofluorescence Imaging of Living Yeast Cells with Deep-Ultraviolet Surface Plasmon Resonance”, *Photonics*, vol. 9, No. 6, pp. 424, 2022