

山内和人

大阪大学大学院工学研究科
教授

コヒーレントX線による走査透過X線顕微鏡システムの構築と分析科学への応用

§1. 研究実施体制

(1)「山内」グループ

- ① 研究代表者:山内 和人 (大阪大学大学院工学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・アダプティブ鏡とアダプティブ KB の開発
 - ・光学系の開発

(2)「西野」グループ

- ① 主たる共同研究者:西野 吉則 (北海道大学電子科学研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・コヒーレントX線イメージングアルゴリズム開発
 - ・コヒーレントX線イメージング試料ユニットの開発
 - ・コヒーレントX線イメージング測定

(3)「志村」グループ

- ① 主たる共同研究者:志村 まり (国立国際医療研究センター研究所難治性疾患研究部難治性疾患研究室、室長)
- ② 研究項目
 - ・走査型蛍光X線顕微鏡(SXFM)による白金製剤の細胞内局在分析
 - ・走査型蛍光X線分析による電気泳動ゲルでの蛋白質含有元素の可視化(検出感度の改善)
 - ・Pt 製剤の副作用機序の解明および副作用を低減するいくつかの新規 Pt 製剤の提案

(4)「前島」グループ

① 主たる共同研究者:西野 吉則 (国立遺伝学研究所、教授)

② 研究項目

- 新しい白金製剤コンプレックス2の細胞に与える影響の解析とシスプラチンとの相違
- 新しい白金製剤コンプレックス2の細胞内局在の放射光によるイメージング
- 放射光 X 線を用いた染色体やクロマチンの構造解析

§2. 研究実施の概要

本研究グループでは、第3世代放射光施設(SPring-8 など)や第4世代放射光施設(X線自由電子レーザー)において得られるX線の優れた性能を最大限に活用可能なアダプティブな(状況に応じて光学パラメータを変更できる)集光光学系を世界に先駆けて開発し、高機能化顕微鏡システムへと展開することを目指している。提案する集光光学系は、4枚のアダプティブ鏡(形状を任意に制御することができる鏡)によって構成されている。アダプティブ鏡の開発とその高精度な変形制御、新しいイメージングアルゴリズムの開発、医学応用(白金抗がん剤の主作用、副作用機序解明)等が主要な研究テーマとなっている。

高機能化顕微鏡システムの構築では、そのキーとなるアダプティブ集光光学系の開発が最終段階に入った。これまでの研究成果を基に、1nmの精度で任意形状の創生が可能な圧電素子をベースとしたアダプティブ鏡(上流用)(長さ:100mm)が完成し、また、より長尺かつ大変形可能なアダプティブ鏡(下流用)(長さ:150mm, 最大たわみ量:80[μm])の開発にも挑戦し、その試作品を完成させた。作製したアダプティブ鏡の性能確認では、SPring-8のBL29XUにおいて集光実験を行い、10keVのX線を65nmに集光することに成功した。これは開口数で決まる理論集光径とよく一致しており、アダプティブ集光光学系による世界初の回折限界条件での集光を実現したものと言える。また、本集光光学系の動作確認の一環として、コヒーレント回折イメージングによる白金微粒子の観察を行い、散乱パターンの解析から微粒子の可視化が確認された。現在、アダプティブ鏡のアライメントシステムやビームモニタ、試料ユニット等で構成される顕微鏡の全体システムの構築を終えつつあり、来年度からの運用準備がほぼ完了した。

本顕微鏡システムの応用研究では、抗がん剤である白金製剤の主作用・副作用機序の解明を進めている。走査型蛍光X線顕微法を使って白金の細胞内局在を調べたところ、白金製剤の種類に応じて特徴的な分布が得られ、機序解明の足掛かりを得ている。また、電気泳動ゲルと走査型蛍光X線分析を組み合わせた、Scanning protein analysis of electrofocusing gels using X-ray fluorescence (SPAX)を提案し、これを実現することによって白金製剤標的分子の同定を進めつつある。その他にも、様々な生化学的アプローチを組み合わせながら、開発中の高機能顕微鏡システムの応用を見据えた、着実な準備が進捗している。

以上のように、顕微鏡システム構築(ハード部分)と、医学応用(ソフト部分)が、当初の計画通り進捗しており、来年度に完成予定の本顕微鏡システムを用い、応用研究を本格的に進めていく。

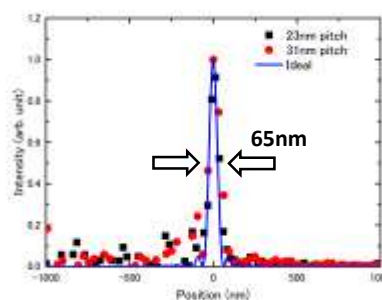


図1 開発したアダプティブ鏡による集光例。開口数に応じた理論集光径(@10keV)を実現している。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. K. Maeshima, R. Imai, S. Tamura, and T. Nozaki, “Chromatin as dynamic 10-nm fibers”, *Chromosoma* (2014) in press (doi: 10.1007/s00412-014-0460-2)
2. T. Nozaki, R. Imai, S. Tamura, and K. Maeshima, “Single nucleosome imaging in living human cells (Technical note, cover image)”, *Cytologia* (2014) in press.
3. T. Kuga, H. Nie, T. Kazami, M. Satoh, K. Matsushita, F. Nomura, K. Maeshima, Y. Nakayama, T. Tomonaga, “Lamin B2 prevents chromosome instability by ensuring proper mitotic chromosome segregation”, *Oncogenesis* (2014) in press.
4. T. Kimura, Y. Joti, A. Shibuya, C. Song, S. Kim, K. Tono, M. Yabashi, M. Tamakoshi, T. Moriya, T. Oshima, T. Ishikawa, Y. Bessho, and Y. Nishino, “Imaging live cell in micro-liquid enclosure by X-ray laser diffraction”, *Nature Communications*, 5 (2014) 3052 (doi:10.1038/ncomms4052)
5. K. Maeshima, T. Funakoshi, and N. Imamoto, “Cell-fusion method to visualize interphase nuclear pore (NPC) formation”, *Methods in Cell Biology* (2014) 122, 239-254 (doi: 10.1016/B978-0-12-417160-2.00011-4)
6. T. Kimura, S. Matsuyama, K. Yamauchi, and Y. Nishino, “Coherent x-ray zoom condenser lens for diffractive and scanning microscopy”, *Optics Express*, 21 (2013) 9267 (doi:10.1364/OE.21.009267)
7. H. Takata, T. Hanafusa, T. Mori, M. Shimura, Y. Iida, K. Ishikawa, K. Yoshikawa, Y. Yoshikawa, K. Maeshima, “Chromatin compaction protects genomic DNA from radiation damage”, *PLOS ONE*, 8 (2013) e75622 (doi: 10.1371/journal.pone.0075622)
8. R. Fukui, J. Kim, S. Matsuyama, H. Yumoto, Y. Inubushi, K. Tono, T. Koyama, T. Kimura, H. Mimura, H. Ohashi, M. Yabashi, T. Ishikawa, and K. Yamauchi, “A Precision Grazing-incidence Angle Error Measurement of a Hard X-ray Condenser Mirror Using Single-grating Interferometry”, *Synchrotron Radiation News*, 26 (2013) 13-16 (doi: 10.1080/08940886.2013.832585)
9. Y. Kawamoto, T. Bando, F. Kamada, Y. Li, K. Hashiya, K. Maeshima, and

H.Sugiyama, “Development of a New Method for Synthesis of Tandem Hairpin Pyrrole–Imidazole Polyamide Probes Targeting Human Telomeres”, *Journal of the American Chemical Society*, 135 (2013) 16468–16477 (doi: 10.1021/ja406737n)

10. T. Nozaki, K. Kaizu, C.G. Pack, S. Tamura, T. Tani, S. Hihara, T. Nagai, K. Takahashi, K.Maeshima, “Flexible and dynamic nucleosome fiber in living mammalian cells”, *Nucleus*, 4 (2013), 349 – 356 (doi: 10.4161/nucl.26053)

11. S. Matsuyama, A. Matsunaga, S. Sakamoto, Y. Iida, Y. Suzuki, Y. Ishizaka, K. Yamauchi, T. Ishikawa, and M. Shimura, “Scanning protein analysis of electrofocusing gels using X-ray fluorescence”, *Metallomics*, 5 (2013) 492-500 (doi: 10.1039/C3MT20266F)

(3–2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数 (国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数 (国内 3 件)