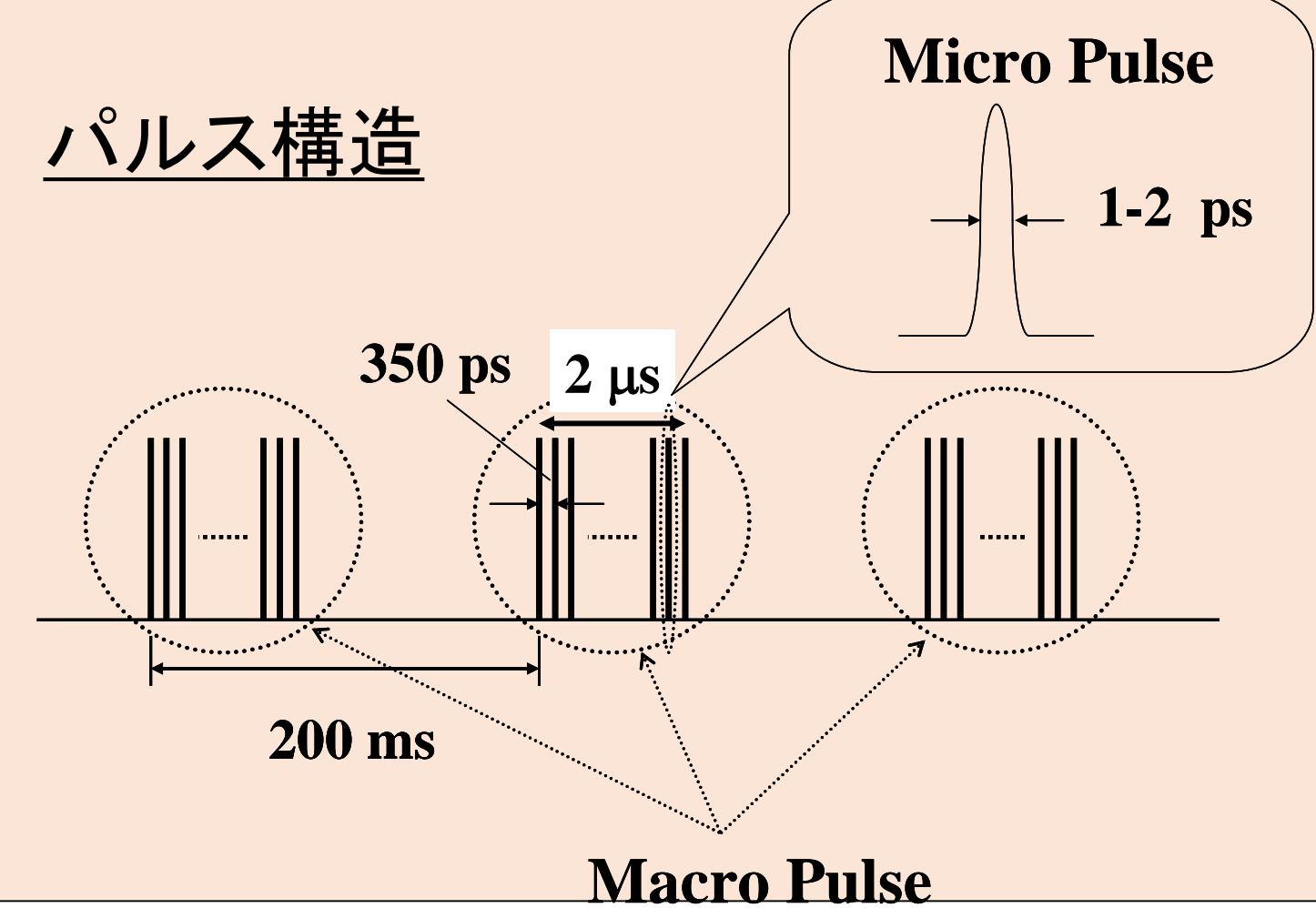
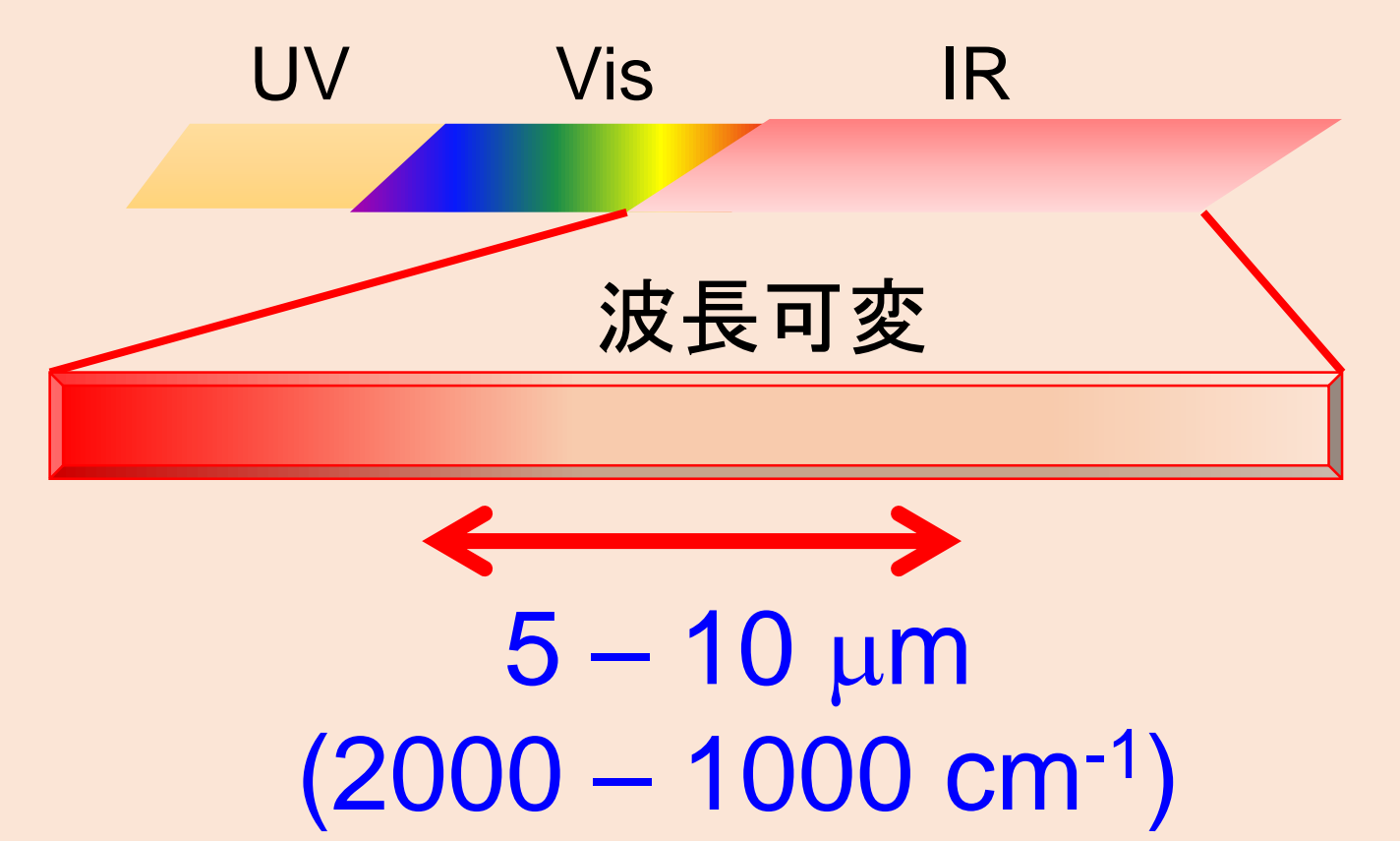
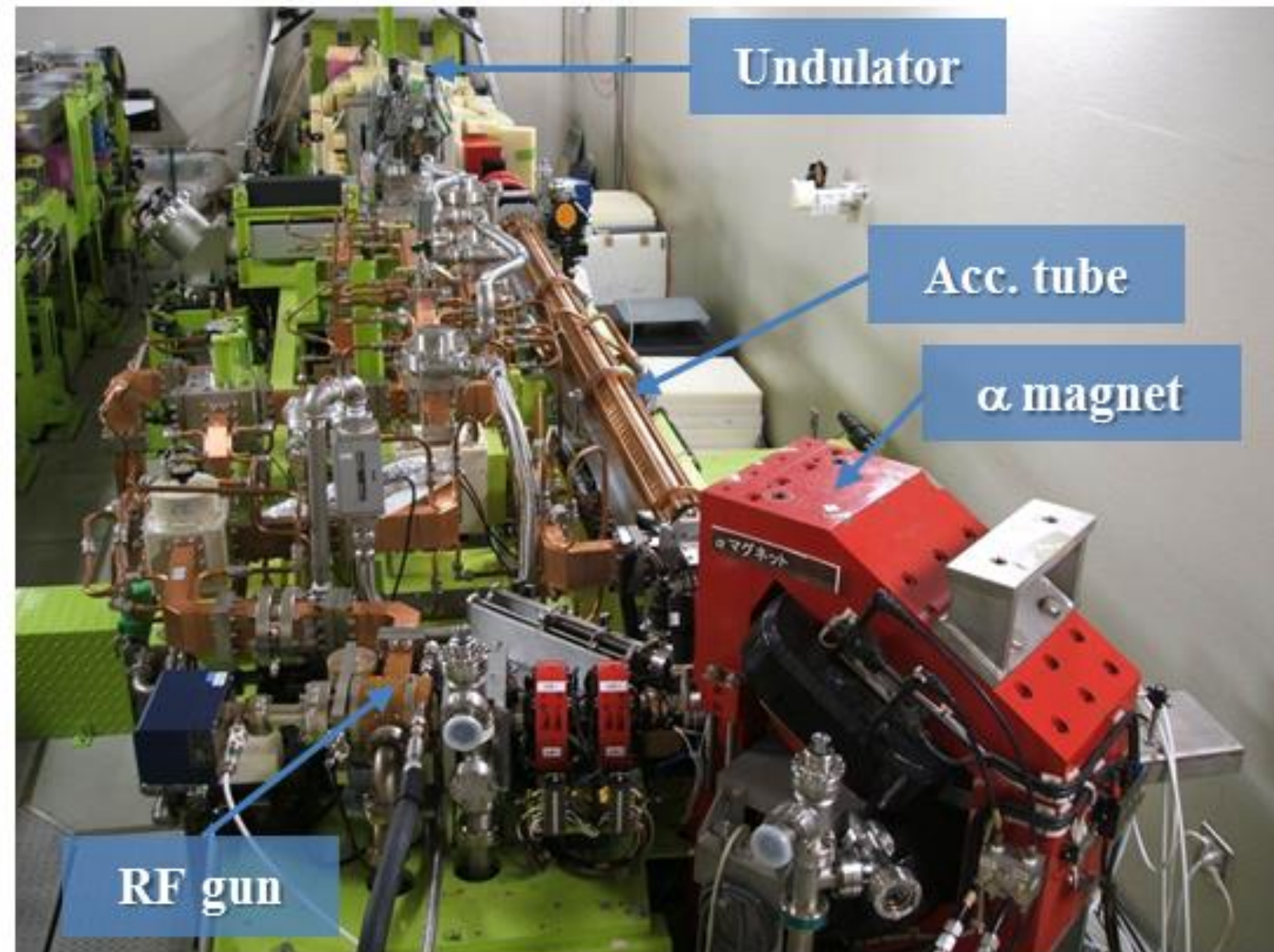
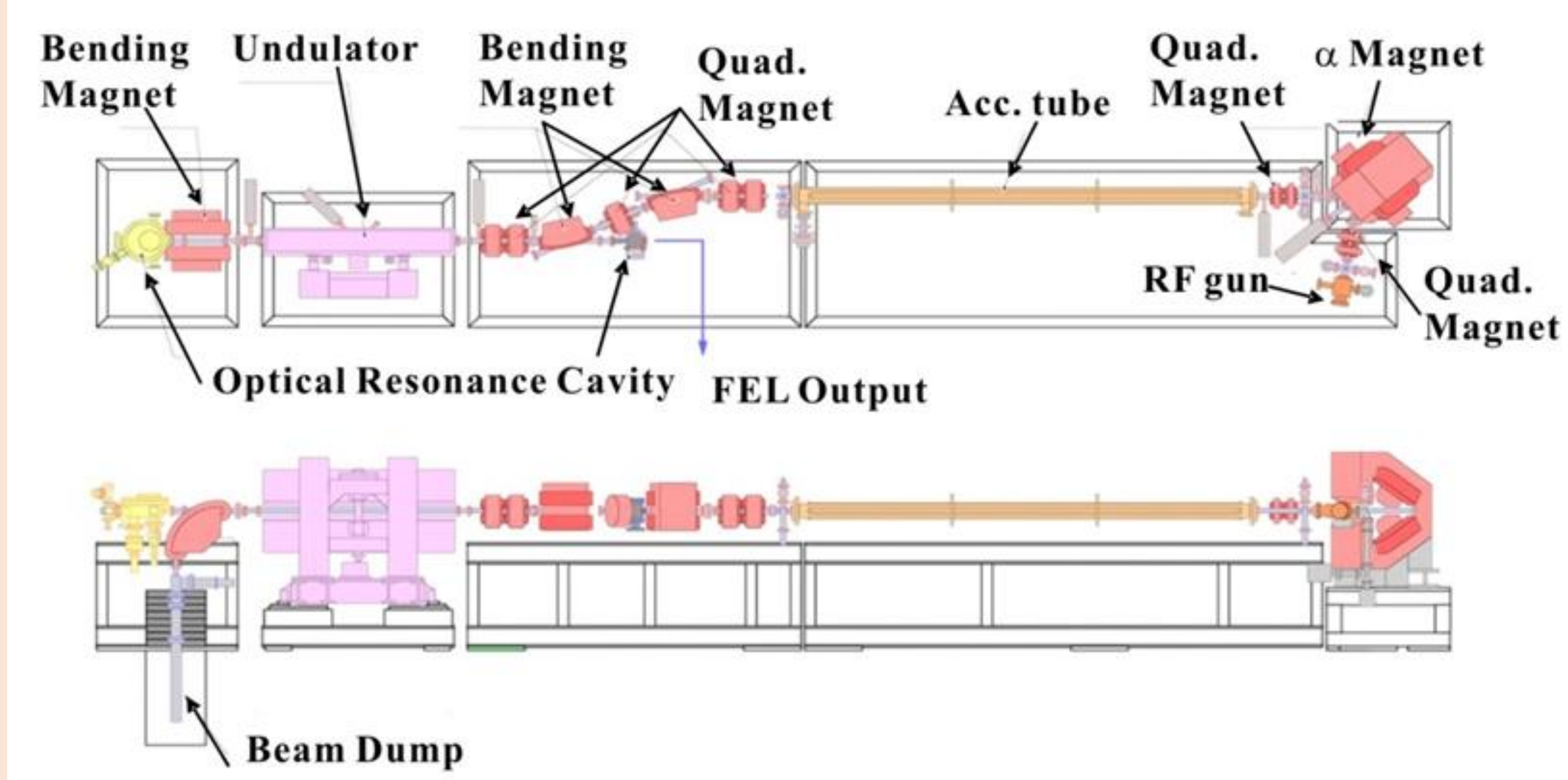




東京理科大学

赤外自由電子レーザー研究センター



MIR-FEL 装置構成

40 MeV電子線形加速器と光共振器を組み合わせ、波長領域 5~10 μmにおいて波長可変である赤外自由電子レーザー (MIR (mid-infrared) - FEL)を高輝度かつ高出力で発振することができる。

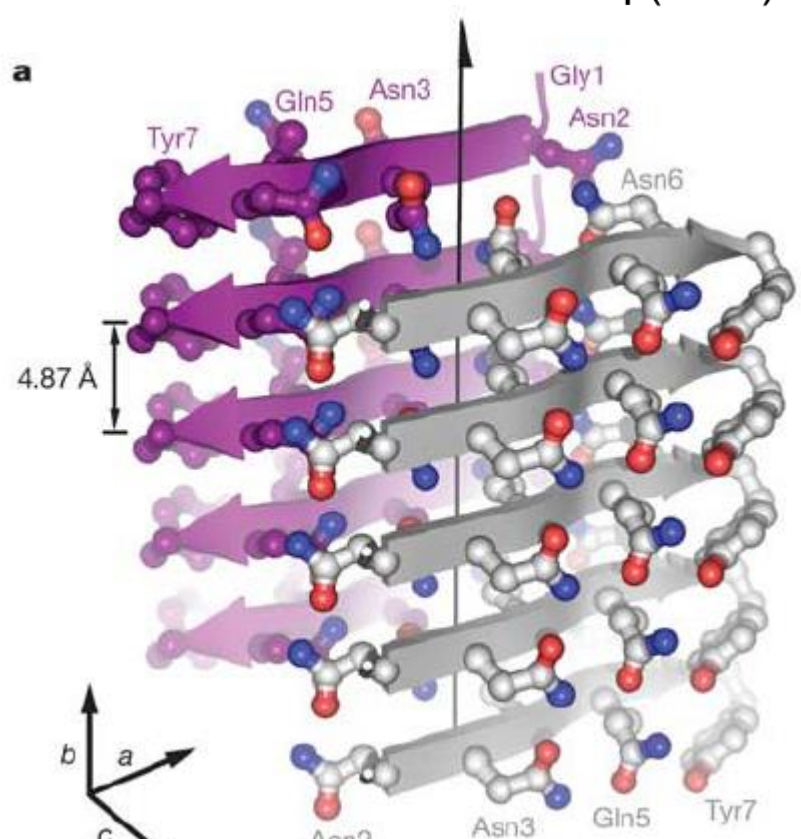
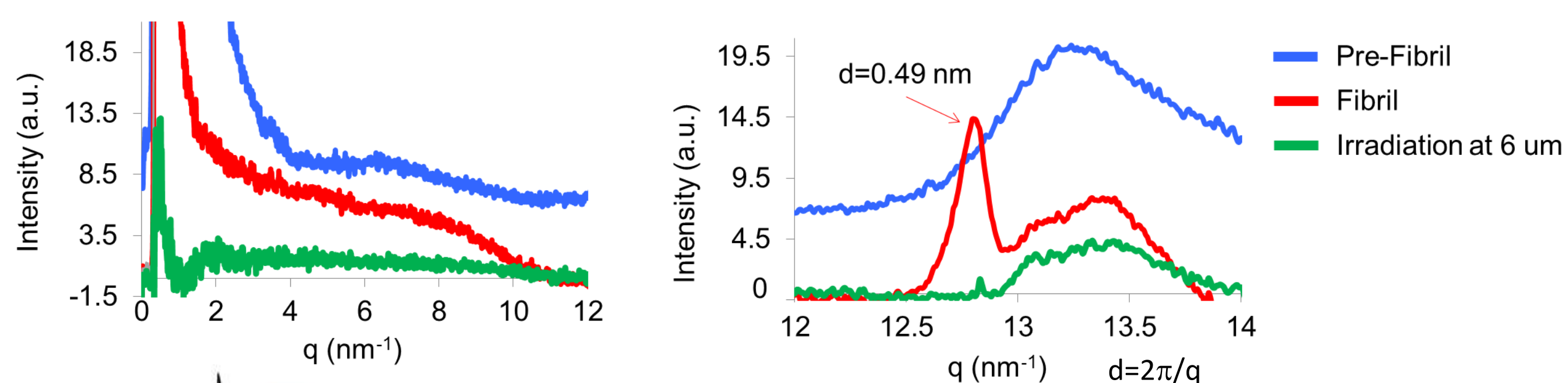
主な共用装置

- 中赤外自由電子レーザー発振装置: 5-10 μmの波長領域で可変, ピコ秒マイクロパルス発振, 約10 mJのマクロパルスエネルギー出力
- フーリエ変換赤外吸収スペクトル測定装置及び赤外顕微鏡(日本分光製): 生体組織切片や複合材料等のFEL照射物のin situ解析が可能
- デジタルマイクروسコープArea PIII-FX (SK-Electronics): 高倍率レンズ(270-2700倍), 1200万画素CCDカメラによる 固体, 液体試料の顕微鏡観察が可能
- 可視紫外分光光度計(1滴測定システム): 200 ~ 1000 nmの紫外・可視領域の吸収スペクトルのスキニング, 波長1点測定, 数μLの液滴でタンパク質濃度や核酸濃度の計測が可能

放射光施設との連携による学術研究

あいちシンクロトロン光センター

公共等利用実験課題: 小角X線散乱法によるアミロイド線維の構造研究



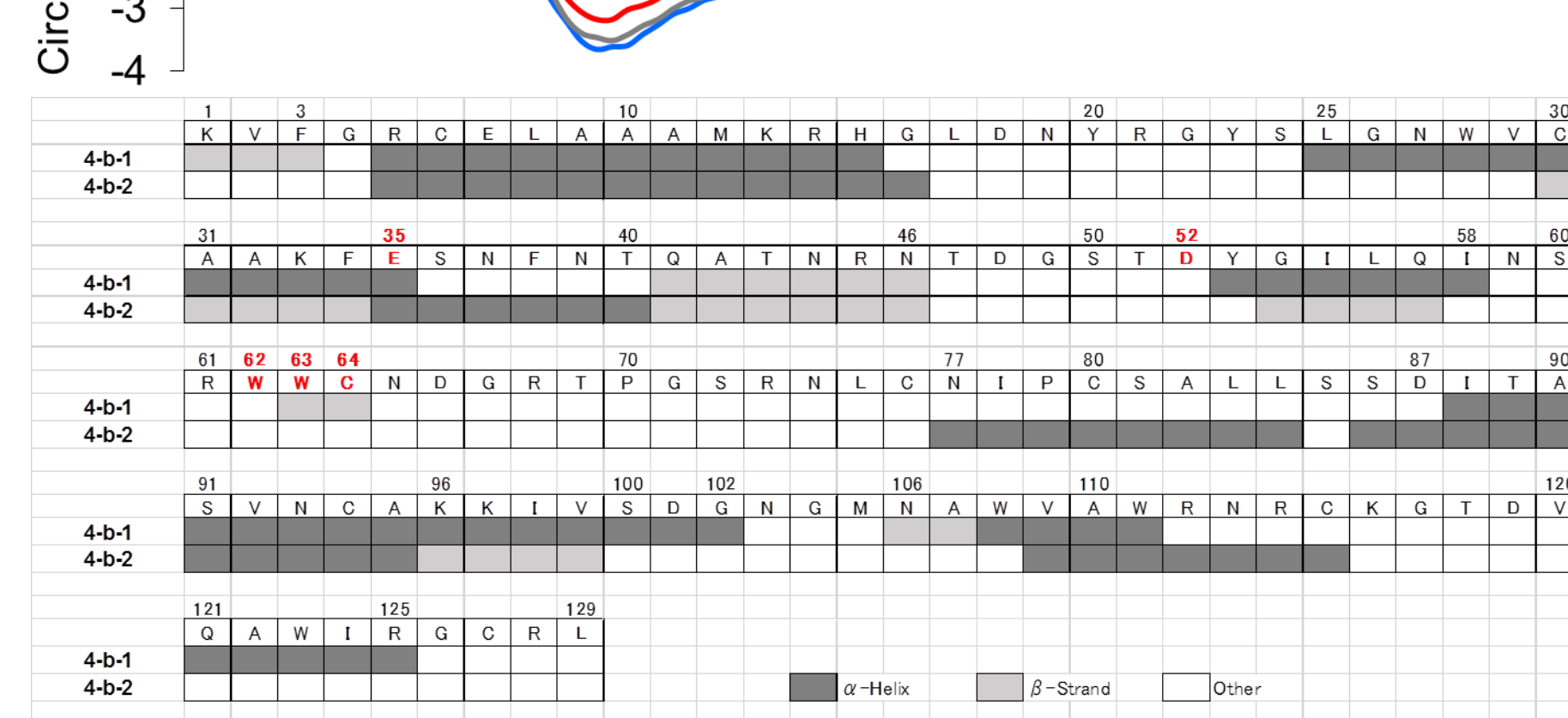
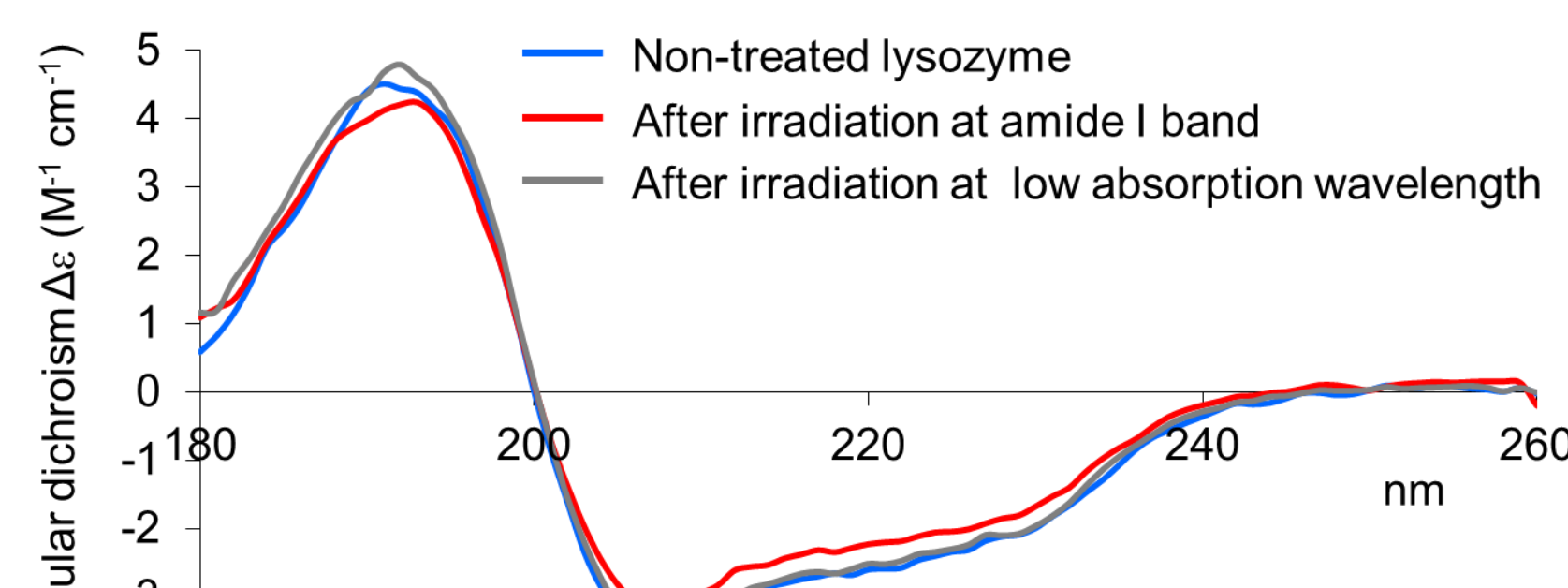
アミロイド線維のX線結晶構造

BL8S3小角X線散乱ビームラインを利用し、FEL照射前後におけるアミロイド線維の散乱スペクトルを比較した。その結果、アミロイド線維のβ-sheet間の距離を示す広角散乱ピーク(d=0.49 nm)がFEL照射後に消失することが判明した。これにより、アミロイド線維構造が解離したことを示す直接の証拠を初めて得ることができた。

到達状況: 共著論文作成中

広島大学放射光科学研究センター

共同研究課題: リゾチームの真空紫外円二色性スペクトル測定



Vacuum-ultraviolet CD 分光法を用いて、赤外自由電子レーザー照射によるタンパク質の特異的構造変化を明らかにした。

- 触媒残基E35とD52近傍の領域がFELにより構造変化を受けやすい。→リゾチーム活性に影響を与える。
- 線維形成のコアとなるW62を含む疎水性領域がFELにより構造変化→線維形成に影響を与える。

到達状況: 共著論文投稿中

主な採択課題

物理系

◎量子ドットにおける中赤外ポンププローブ分光

◎赤外自由電子レーザー励起による固体内局在中心可視発光

材料科学・化学系

◎新材料創出を目的とした有機金属化合物の精密分解

◎赤外自由電子レーザーの温度イメージング

◎赤外自由電子レーザーによるレジスト材料の界面付着特性の研究

◎高輝度赤外光放射による分子配向制御

生命科学系

◎赤外自由電子レーザーによるアルツハイマー病関連タンパク質凝集構造変換

◎赤外自由電子レーザーを用いた毛髪内タンパク質構造コントロール

MIR-FEL 年間稼働時間 1500 ~ 1800 時間/年

研究課題数/年 4-6 件(外部ユーザー) 2-4件(学内ユーザー)

赤外自由電子レーザーによるメラニンの分解

目的

メラニンが関与する皮膚病であるメラノーマの治療方法として、600–1000 nmの可視光・近赤外領域のレーザー照射が一般的に取り入れられている。しかし、可視光レーザーの照射では完治できないケースも報告されており、様々なメラノーマに対して共通の治療効果を発揮する、メラニン特異性の高いレーザー治療方法が求められる。本研究では、メラノーマに対する選択的なレーザー治療技術の開発を目的として、東京理科大学赤外自由電子レーザーによるメラニンの光分解を試みた。

東京理科大学赤外自由電子レーザー(FEL-TUS)

特徴

- 波長可変
- 高輝度
- 特異なパルス構造

電子銃 + 線形加速器 → 共振ミラー → FEL → シンクロトロン放射 → 共振ミラー → 電子ビーム

波長可変範囲	5–14 μm
バンド幅	~1.0 %
マクロパルスの繰返し	1–5 Hz
マクロパルスのエネルギー	max. 14 mJ

FELの発振領域

UV (400 cm⁻¹) | Vis (800 cm⁻¹) | IR (2000 cm⁻¹)

FEL-TUS: 800 – 2000 (cm⁻¹)

IR: 800 – 2000 (cm⁻¹)

振動モード: C-O伸縮, C-N伸縮, C-H変角, C=C伸縮, C=O伸縮

メラニン

真性メラニン (Eumelanin) 黒褐色

亜メラニン (Pheomelanin) 橙赤色

詳細な分子構造は不明

操作方法

FEL光源 → BaF₂レンズ (f = 150 mm) → Cuミラー → ステンレス基板

ビームスポット径: 0.36 – 0.42 mm

メラニン粉末 or メラノーマ細胞溶液

約2 mgのメラニン粉末 or メラノーマ細胞溶液を基板上に添加

垂直方向からFELを集光しながら大気圧下 10–60分間照射

メラノーマ細胞の培養

細胞: B16 melanoma 4A5
容器: 24 well
培地: DMEM
培養環境: 37°C, CO₂ 5%

【細胞培養】

- 80°Cで保存されている細胞を解凍
- 培地5 mLと細胞懸濁液を容器に入れる
- 遠心分離 (1000 rpm, 3 min)
- 上澄みを捨て、培地1 mLを加えてピペッティング
- 300 μLずつwellに入れる
- 2日間培養

【2日後】

- 上澄みを捨て、wellの底に張り付いた細胞をはがす
- 培地2 mLと細胞を容器に入れる
- 遠心分離 (1000 rpm, 3 min)
- 上澄みを捨て、培地2 mLを加えてピペッティング
- 2 mLずつwellに入れる
- FEL照射
- さらに2日間培養

FEL照射波長

- 1290 cm⁻¹
- 1400 cm⁻¹
- 1618 cm⁻¹
- 1718 cm⁻¹
- 2000 cm⁻¹
- 非照射

結果

★光学顕微鏡による形態変化の観察

【メラニン】

非照射 vs FEL 1718 cm⁻¹

FEL照射によるメラニンの変色を確認

【メラノーマ】

非照射 vs FEL 1718 cm⁻¹

黒い点がメラノーマ細胞

FEL照射によりメラノーマ細胞の数が減少

FEL照射によりメラノーマ細胞が死滅

★固体NMR

CP/MAS 15 kHz

— FEL照射後 (赤線)

— FEL照射前 (黒線)

200 ppm付近にカルボニル基

150 ppm付近にカルボン酸のピークが出現

構造の一部がフラグメント化あるいは構造転移

★細胞数の照射波数特異性

細胞数 [10⁶]

照射前: 2.2

2000 cm⁻¹: 2.8

1718 cm⁻¹: 2.4

1618 cm⁻¹: 3.1

1400 cm⁻¹: 2.7

1290 cm⁻¹: 3.5

非照射: 4.0

1718 cm⁻¹でFEL照射したメラノーマは、他と比較して細胞数が特に少ない

この波長の照射でメラノーマが特異的に死滅

★マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析

照射前: 563, 616.2

FEL照射後 (1718 cm⁻¹): 563, 616.2

照射後に m/z = 563.0 の新たなピークが出現した。

メラニンが部分的に構造解離を起こし、ピロール環又はインドール環が脱離した可能性が考えられる。

★メラニンへのFEL照射前後のIRスペクトル

Abs vs Wavenumber [cm⁻¹]

— 非照射 (赤線)

— 1718 cm⁻¹ (青線)

— 1618 cm⁻¹ (黄線)

— 1290 cm⁻¹ (緑線)

1718 cm⁻¹, 1618 cm⁻¹, 1290 cm⁻¹ でのFEL照射により、1400 cm⁻¹の位置に新たなピークが出現

結論

- FEL照射によりメラニンの骨格に構造変化が起こり、メラノーマ細胞の増殖が抑制されることが判明 → その効果は特に波長1718 cm⁻¹で大きい
- FEL照射によりメラニンの構造が変化
- 今後、メラニンの詳細な構造解析を実施し、FEL照射による構造変化を解明する
- 将来的には、人の皮膚に対する照射実験を行い、FELをベースとした新規レーザー治療技術の開発を目指す