

# LEBRA施設報告

No. 2

2002年8月

日本大学電子線利用研究施設

## はじめに

「私立大学学術研究高度化推進事業」である「学術フロンティア推進事業」の研究プロジェクト「可変波長高輝度単色光源の高度利用に関する研究」(研究組織代表者：小嶋勝衛(原子力研究所所長))は平成12年度から実施されることになり、平成14年度は3年目となる。

平成12年度には、研究拠点が共通研究施設としての役割を担うために、既設研究施設に隣接させて2階建実験棟(1304m<sup>2</sup>)が増築され、レーザー照射実験室(9室)、実験準備室(5室)、資料分析室(5室)、研究室(7室)、物品管理室、資料室、会議室、管理室が用意された。実験棟が完工後の平成13年度には各レーザー照射室にはレーザービームラインが敷設されレーザー照射装置が設置され、イメージ・インテンシファイアー、TOF質量分析装置、ZEKE-PFI測定装置、マイクロレイ解析システム、多関節レーザー照射装置等が導入された。又、資料分析室には、予備実験用研究装置として、粉末結晶X線回折装置、微小部X線回折装置、生体高分子高次構造解析装置が設置され、更に、タンパク質結晶を成長させるために必要なコールドルームや実験器材が用意された。

パラメトリックX線源に対応できる微小部X線回折装置、生体高分子高次構造解析装置が開発されて、既に実験室に設置されX線源の実用化待ちの状態にある。

加速器室にはパラメトリックX線発生装置が導入され、放射線源の使用許可申請が認められると直ちに実用化実験を開始する。又、加速器器材室にはマイクロ波電子銃、ドライブレザーが導入され自由電子レーザーの性能向上を目指して整備が行われている。

本報告書は上記の研究プロジェクトによる平成13年度の研究計画の進捗状況を取りまとめたものである。

平成13年度の学術フロンティア推進事業は、利用実験に必要な器材器具を取りそろえ、利用研究の実験環境を整えることに重点を置いた。その結果、タンパク質結晶の作成が容易になり、予備実験用生体高分子高次構造解析装置を使って、卵白リゾチームの立体構造分子モデルを作成出来るようになった。更に、予備実験用微小部X線回折装置を使って、唾石結晶の2次元回折像による分析が開始されている。

平成13年度に1.5 $\mu$ mの赤外線自由電子レーザーの発振に成功したが、しかし、依然として、飽和状態に至らず、又、赤外線自由電子レーザーが強烈に発振する際、予想外に可視光の強度も強烈になる現象が観測されており、その原因とメカニズムを追及している。又、光空洞共振器の反射鏡(誘電体多層膜)が大強度のレーザー発振によって破損する現象が生じ、何が原因であるかを追及しているが未だ確証は得られていない。

一方、加速器は電子ビームの安定化が最大の問題点であり、特に、夜9時以降に起こる商用電力の変動が電子ビーム加速を不安定にすることが明らかになり、東京電力の協力を得ながらその原因を追及しているが、対応に苦慮している。

このように、解決しなければならない問題を抱えているが、これまでと同様に着実に 1 つ 1 つ解決して万全を尽くす以外に方法はないと考えている。

平成 14 年 8 月

学術フロンティア推進事業

「可変波長高輝度単色高原の高度利用に関する研究」

研究分担代表責任者 佐藤 勇

---

[研究プロジェクト事務局]

〒274-8501

千葉県船橋市習志野台 7-24-1

日本大学工学部船橋校舎物理実験 B 棟

電話：047-469-5489

FAX：047-469-5490

e-mail：office@lebra.nihon-u.ac.jp

URL：http://www.lebra.nihon-u.ac.jp

# 目次

---

## 研究プロジェクトの概要

- 研究目的・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
- 研究組織・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5
- 研究実施状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6
- 講演会等の開催・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10

## 研究設備と研究実施状況

- 研究設備・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
  - 共同利用実験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22
- 光源と測定・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 24
  - 自由電子レーザー・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 24
  - パラメトリック X 線・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 27
  - X 線の測定システム・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 30

## 作業グループからの報告

- 自由電子レーザーの炎症メディエーター産生骨形成への影響・・・・・・・・ 33
- レーザー波長の著外が歯の硬組織に及ぼす影響・・・・・・・・ 39
- 金属タンパク質の NO 捕捉能と構造に関する研究・・・・・・・・ 41
- 波長可変ピコ秒レーザー光源を用いた 2 光子あるいは 3 光子励起法による Light Harvesting  
分子の新たな電子状態の探索・・・・・・・・ 44
- 生体硬組織の結晶構造解析・・・・・・・・ 46
- 爬虫類アルダブラゾウガメへのヘモグロビン D(HbD)の結晶構造解析・・・・・・・・ 55
- 自由電子レーザーによる組織再生効果に関する研究・・・・・・・・ 58
- 放射光 CVD・PLD 法による環境半導体成膜・・・・・・・・ 60
- パラメトリック X 線による多波長観測と画像解析・・・・・・・・ 62
- 自由電子レーザーを用いた歯質切削条件に関する研究・・・・・・・・ 64
- フォトカソードマイクロ波電子銃の開発・・・・・・・・ 65
- パラメトリック X 線放射による波長可変単色 X 線源の開発・・・・・・・・ 67
- コヒーレントで単色な X 線・光に誘起されたクラスター、ナノ結晶の新光機能の探索・・・・・・・・ 69
- 放射光によるスーパーダイヤモンドの合成・・・・・・・・ 71

## 1. 研究プロジェクトの概要

# 研究目的

---

日本大学電子線利用研究施設（LEBRA）では、21世紀に向けて、科学技術の進展に相応しい物質、生命、資源科学の広い学問分野を対象とする先端的な研究拠点を構築中である。この方向に沿って本研究拠点では、小型加速器である 125MeV 電子線形加速器を最大限に活用し、赤外線から紫外線領域の短波長自由電子レーザーと 3~30keV の波長可変な単色 X 線源を開発し、世界に先駆けて赤外線から X 線に至る広い領域の可変波長高輝度単色光源の実用化を進めてきた。これらの光源、線源の利用研究計画を積極的に進め、理学、工学、医学、農学などを横断する研究ができる施設として環境を整備し、これからの可変波長高輝度単色光源を高度に利用する物質・生命科学の先端的研究を推進し支援することを目的にしている。

さらに、本研究施設では日本大学の理念と戦略に基づく「未来創造プロジェクト」の趣旨に沿い、「21 世紀における自然科学の必然的な発展」を見据えた、全世界に要請される具体的なテーマでかつ、一私立大学でも他の研究機関と協力することによって対応できる「21 世紀の先端的な物づくり Super Molecule Factory（超分子工場）」に挑戦している。これは、可変波長高輝度単色光源である自由電子レーザーやパラメトリック X 線を同時に稼動し活用した光触媒反応や光酵素反応を用いて、特殊能力を持つ分子クラスターや生命体のような多機能を持つ巨大分子を創生し、これらの機能や構造を系統的に探求することを目的とした一大プロジェクトである。本研究拠点では、「21 世紀の物づくり」である「Super Molecule Factory」への取り組みの第一歩と位置付けられ、新世紀パラダイムを実現する大きな成果をもたらすものと期待されている。

## 研究内容

本プロジェクトでは、Super Molecule Factory に進展する準備段階（Phase I）として、研究分野を光、触媒、酵素に対応する光源開発、物質科学、生命科学に分類して、多分野から研究提案を受け、その中から下記のような研究テーマを取り上げて、開発研究と実用化を推進している。

- (1) 光源開発
  - 1) 奇妙な波長可変コヒーレント光
  - 2) 新機能物質探索用 2 色同期光の開発
- (2) 物質科学における利用研究
  - 3) 光励起によるスーパーダイヤモンドの合成
  - 4) 半導体素子材料に対する電離照射効果
  - 5) 金属磁性物質の高圧下の XANES の研究
  - 6) 分子クラスターの光誘起相転移
  - 7) 光誘起触媒化学反応の解明
  - 8) 新光機能素材の開発

- 9) 大気汚染物質の光化学過程の追跡
- (3) 生命科学における利用研究
  - 10) 歯の硬組織に及ぼす光の影響
  - 11) 歯科合金の金属疲労
  - 12) インプラント界面構造と組織の解明
  - 13) 金属タンパク質の NO 補足能
  - 14) ヘモグロビンの高次構造解析
  - 15) ヘモシニアンの高次構造解析
  - 16) カルシウム結合タンパク質の高次構造解析
  - 17) 組織再生の光効果
  - 18) レーザー波長と歯質切削条件

## 今後の展開

触媒や酵素は、化学反応の前後で自身は変化しないで、反応速度を速める機能を持っている。触媒や酵素が作用する反応物質を基質と云い、基質を材料にして触媒や酵素が生成する物質を生成物と云う。触媒や酵素には基質の活性化エネルギーを下げて遷移状態を容易にする働きがあり、その結果、生成物ができる反応速度は増加するが、化学変化の平衡関係は変化しない。従って、生成物が蓄積されると反応は鈍くなる。しかしながら、生成物が消費されると反応が迅速に進む。

化学工業では金属などが広く触媒として利用され、歴史的には新しい触媒の発見によって、次々に発展を促進してきた経緯がある。触媒には、溶液中で反応物と均一に混じって反応する均一系触媒と水素分子を触媒活性化する金属（白金）等の不均一系触媒（固体触媒）に分類されるが、現在、これらは環境にやさしい「ものづくり」の技術として新しい触媒の開発が進められている。

例えば自動車の排気ガス浄化触媒として、酸素不定物質であるペロブスカイトや、或いはメタンをガソリンに変える機能を持つゼオライトなどは、特定の化学反応を選択的に起こさせる機能性触媒として注目されている。更に、光エネルギーによって触媒作用を示す物質として、二酸化チタン、硫化カドミウムが固体触媒として知られている。溶媒に溶ける均一触媒としてはルテニウム錯体、ロジウム錯体がある。二酸化チタンは光があたると周囲の酸素は活性酸素に変わり、その酸化力により窒化物や硫化物などの有害物質を除去する試みがなされている。この光触媒は、よく知られているように、既に脱臭、防汚、抗菌、水の浄化に利用されている。更に、二酸化チタンと白金を電極として、二酸化チタンを特殊な可視光（400nm）で励起すると、水を水素と酸素に分離できる。

一方、酵素は通常生体細胞の中で作られるタンパク質である。酵素の触媒作用は極めて特異であり、ただ一種の物質か或いは共通の構造要素をもつ一群の物質にしか作用しないことが知られている。その種類は多く、機能によって酸化還元酵素（オキシドリダクターゼ）、転移酵素（トランスフェラーゼ）、加水分解酵素（ヒドラーゼ）、離脱酵素（リアーゼ）、異性化酵素（イソメラー

ぜ)、合成酵素（リガーゼ）に分類されている。最近では酵素の機能をもつ物質が合成する試みが行われ、クラウンエーテルやクリプタンドなどの環式化合物が産出されている。

酵素が特定の基質にのみ選択的に作用する酵素の基質特異性は、基質分子と酵素上の基質が結合する部位が、立体構造的に鍵と鍵穴の関係で結合していることによる。即ち、基質分子が酵素の基質結合部位に接近すると、基質結合部位の構造が基質に適合するように微妙に変化し、結合を助けるようにも考えられ、これを誘導適合と呼んでいる。酵素には、基質特異性が非常に厳密で、一種類の基質にしか作用しないものから、基質特異性が比較的緩やかで類縁物質に作用するものまで多種多様である。動物の細胞内には千種類から四千種類の酵素が存在するが、それでも混乱が起きないのは、このメカニズムにある。

機能性生体分子は基本的には超分子であるが、現在は人工的超分子の研究が活発になってきている。特に王冠状の分子構造をもつクラウンエーテルは大環状ポリエーテルであり、環の内側の空孔にアルカリ金属陽イオンやアミノ酸陽イオンを取り込み安定な錯体（超分子）をつくることができる。この孔を調整することにより、任意のアルカリ金属イオンを選択的に捕獲し、アミノ酸の光学異性体の分割が行える。環の外側は疎水性であり、クラウンエーテルに捕獲された陽イオン（親水性）は有機溶媒に溶けやすくなる。特定の波長の光をこの孔の半径の調節に活用することが考えられる。一方、陰イオンを捕獲するクリプタンドや複数個のフェノール単位を持つカリックスアレーンなどの環状化合物は、包接体のホストに適した構造であり、環の大きさや化学的性質に適したゲストを選択的に捕獲するので、未知の機能を持つ超分子が生成される可能性を持っている。

これらの分子は弱い相互作用で集合し、最も安定な状態をつくる自己集合によるカプセル型超分子の生成が注目されている。この中に閉じこめられた分子の性質は通常の性質とは著しく異なっており、普通の条件では起こらない反応が起こり、不安定な物質を安定化することも不可能ではない。超分子は 21 世紀の先端を行くものづくりである。

## むすび

地球ができたのは約 46 億年前と推定されているが、その当時の地球上には生物はむしろ有機物も存在していなかった。その後、大気や海洋の激しい変動により、アミノ酸が作られ、やがてそれらがでたらめに繋がって原始的なタンパク質が生成したと考えられる。原始的なタンパク質が作られた時期に原始的な核酸もつくられ、その核酸を材料に、非常に小さい原始的な生命が発生したのは約 30 億年前と推定されている。それ以来、現在見るような多彩な生物をつくり出してきたが、地球上の全ての生物は原始地球上で偶然に発生した原始的な生命を起源として、それから様々な変化を受けて来た結果である。

現在、地球上に存在する超分子（生命体を含む）は多水素結合を基盤としている。多水素分子は、個々の水素結合力は弱いが、多水素結合でその結合力の弱さを補い、しなやかで丈夫な分子として存在している。又、部分的に結合が切断されても、親水作用を通じて簡単に修復する仮想機能を取得し、このメカニズムは炭素や窒素の元素を媒介し触媒や酵素により複雑な生命体のよ



うな超分子に成長している。この水素結合エネルギー領域は、太陽が照射する可視光領域とほぼ一致し、特に生物はその恩恵に浴している。また、この波長領域では水の光吸収が極端に弱いことが、超分子形成に大きな役割を果たしている。

本研究施設では、高周波電子銃やサブハーモニック・バンチャーを用いない普通の電子リニアックによる短波長自由電子レーザー発振に成功した世界最初の例となった。日本大学の自由電子レーザーの特徴は、

- 1) パルス電子リニアックでは世界最強のレーザーパワー
- 2) 世界で最もコストパフォーマンスが高い、(他の研究機関の自由電子レーザー建設費に対して約 1/5~1/4)
- 3) 自由電子レーザーとパラメトリック X 線を併用し、超分子の生成と機能分析ができる世界最大級の規模を誇る研究施設を世界で最初に開始

が上げられる。

本研究施設では、上の事実に基づき、プロジェクトの第二段階 (Phase II) として、水の可視光特性に注目し、可視光自由電子レーザーによる光触媒化学反応や光酵素化学反応を活用して超分子の創生を行い、超分子の新機能の解明を目指している。

# 研究組織

---

平成 12 年に下記の研究分担者からなる研究組織が組織された。この研究組織は自由電子レーザー及びパラメトリック X 線を物理領域にとどまらず、工学領域、生物学領域、医療領域など広範な領域の研究者で構成されている。異領域の研究者が共同利用を実施し、協働することで今まで考えられていなかった発想を生み、これが新たな技術さらには産業の創生につながるものと考えられる。また学内ばかりでなく広く国内外の研究者にも開放し、社会の要請に応えられるよう配慮した。これを受け高エネルギー加速器研究機構、東京理科大学理学部、明海大学歯学部、徳島大学総合科学部、ニューヨーク大学歯学部と共同研究を行っている。

研究代表者	所属
小嶋勝衛	日本大学量子科学研究所

研究分担者	所属	専門
佐藤勇	日本大学量子科学研究所	研究リーダー 加速器科学
安孫子 宜光	日本大学松戸歯学部	機能系基礎歯科学
池見 宅司	日本大学松戸歯学部	保存治療系歯学
奥 忠武	日本大学生物資源科学部	生物生産化学・生物有機化学
奥山 克彦	日本大学工学部	レーザー分子分光学
寒河江 登志朗	日本大学松戸歯学部	解剖学一般（含組織学・発生学）
宍倉 文夫	日本大学医学部	分子生物学
清水 典佳	日本大学歯学部	機能系基礎歯科学
鈴木 薫	日本大学理工学部	電子・電気材料工学
西山 實	日本大学医学部	補綴理工系歯学
早川 建	日本大学量子科学研究所	加速器科学
早川 恭史	日本大学量子科学研究所	放射線計測
望月 章介	日本大学文理学部	光物性物理学
山本 寛	日本大学理工学部	電気材料

上記組織で原則月 1 回の研究分担者会議を開催している。ここでは予算の策定、研究計画、各研究の進捗状況の報告等を行った。また年 1 回「電子線利用研究シンポジウム」を開催している。ここでは自由電子レーザー、パラメトリック X 線等光源の現状報告の後、各研究分担領域についてパネルディスカッションを行った。

# 研究実施状況

---

平成 13 年 6 月～平成 14 年 8 月の本研究プロジェクトにおける研究実施状況の概要を以下に述べる。なお本記述は研究題目、研究代表者(氏名、所属)、研究実施状況の順に記されている。また、各研究項目は研究代表者氏名を基として五十音順に列挙されている。

## (1) 自由電子レーザーの炎症メディエーター産生 骨形成への影響

安孫子 宜光 (日本大学松戸歯学部)

### (a) 差分化遺伝子クローニング

差分化遺伝子ライブラリーからプラスミド DNA を抽出、精製し制限酵素で切断してアガロースゲル電気泳動を行い、挿入断片を調べた。300bp 以上の挿入断片をもち、かつ制限酵素消化パターンが異なる 88 遺伝子クローンを選び、プラスミド DNA を精製し、それぞれの挿入 DNA 断片の塩基配列について 520bp 解読した。得られた塩基配列情報を NCBI の BLAST プログラムで塩基配列のホモロジー検索を行った。

### (b) 滑膜細胞のキモカイン産生への影響

①滑膜細胞の各種細胞マーカーによる免疫染色

②光照射による IL-6 産生への影響

滑膜細胞に 1.0 U/ml IL-1 $\beta$  を作用させた直後にレーザーを照射し、その 3 時間後に培養上清中の IL-6 量を測定した。

③光照射による IL-8、MCP-1 産生への影響

滑膜細胞に 1.0 U/ml IL-1 $\beta$  を作用させた直後にレーザーを照射し、その 3 時間後に培養上清中の IL-8 量を測定した。

## (2) レーザーの波長の違いが歯の硬組織に及ぼす影響

池見 宅司 (日本大学松戸歯学部)

須原はエルビウム YAG レーザー照射後の象牙質に対するコンポジットレジンの接着強さを向上させるために、平成 13 年度に報告した山本らの試作プライマーを使用し、レーザーの照射方法を変化させて実験を行った。

## (3) 金属タンパク質の NO 捕捉能と構造に関する研究

奥 忠武 (日本大学生物資源科学部)

### (a) 酵母での発現

シトクロム  $c_6$  遺伝子の成熟化領域 (85 残基) を酵母分泌発現ベクターに連結させ、*Phichia pastori* に形質転換を行った。

### (b) 大腸菌での発現

シトクロム  $c_6$  遺伝子のシグナルペプチドを含む全翻訳領域 (110 残基) をベクターに連結させ、大腸菌 DH5 $\cdot$  に形質転換し、発現を行った。

#### (4) 波長可変ピコ秒レーザー光源を用いた 2 光子あるいは 3 光子励起法による Light Harvesting 分子の新たな電子状態の探索

奥山 克彦 (日本大学工学部)

研究手段の主力は超音速分子線による質量選別レーザー分子分光法になる。超音速分子線発生装置およびそれを用いた光イオン化質量分析装置はすでに完成し、性能試験も終わっている。さらに一部の Light Harvesting 分子 (テトラフェニルポリフィリン) については、ナノ秒レーザーではあるが光パラメトニック発振により発生した赤外レーザー光 ( $0.8\mu\text{m}\sim 1.2\mu\text{m}$ ) を用いて、新たな電子状態 (g 状態) の探索を始めている。

#### (5) 生体硬組織の結晶構造解析

寒河江 登志朗 (日本大学松戸歯学部)

パラメトリック X 線源の本格利用がまだ可能な状況にないため、既設の予備実験機 (IP 型微小部 X 線回折装置、回転対陰極型粉末・薄膜 X 線回折装置) を用いて装置操作および解析技術の習得を行った。

##### (a) 微小部 X 線回折装置を用いたエナメル質カリエス (虫歯) の研究

微小部 X 線回折装置によって 100 ミクロン径の X 線ビームを照射して、むし歯の病巣本体から健全部エナメル質までを連続的にスポット分析した。

##### (b) 微小部 X 線回折装置に自動 XY ステージを用いた歯のエナメル質カリエス (むし歯) 結晶の研究

X 線ビームを試料上で走査してむし歯病巣から正常エナメル質まで結晶の変化を追いかける。手動 XY 試料ステージでもこれは可能であるが、本研究施設では自動 XY ステージを微小部 X 線回折装置に装着し、これで任意の範囲を連続自動測定が可能となった。

##### (c) 折装置を用いた歯の象牙質における結晶の配向性の比較

象牙質はコラーゲンと象牙質アパタイト結晶が複合体を成しているが、その組織構造・結晶組織は一様ではなく、部位差・歯種差・動物差などが見られることが我々のグループによって既に合評されている。今回、その事実の確認と、さらに動物の種類を広げて比較解剖学的に検討を加える。

##### (d) X 線回折装置を用いた合成アパタイト材料の分析

湿式合成したいくつかのアパタイトを粉末 X 線回折法で研究した。

##### (e) X 線回折装置を用いた骨髄由来細胞による石灰化物の微量分析

様々な条件下において骨髄由来細胞を培養すると、形成された石灰化物の様相が異なっている。これを粉末 X 線回折法で調べた。

##### (f) 薄膜 X 線回折装置を用いた Ti インプラント表面 (界面) の研究

Ti の表面を加工したものを何種類か用意して、それらの材料学的比較を試みた。特に Ti 表面の状態を分析するために、薄膜測定法を利用することにした。

(g) 粉末 X 線装置の特殊な測定法を利用した唾石の分析

粉末 X 線回折装置は角度分解能において微小部 X 線回折装置を上回っており、結晶学的性質を詳細に追及できる。さらに、当該粉末 X 線回折装置は測定系が全自動に設定可能であり、スリット系も角度依存型に設定が可能である。この性能を利用して、試料への X 線照射幅を 2mm に制限した、「制限照射測定法」とでも呼ぶ方法を実際の病的石灰化物である唾石に応用した。

**(6) 爬虫類アルダブラゾウガメのヘモグロビン D (Hb D) の結晶構造の解析**

宍倉 文夫 (日本大学医学部)

電子線利用研究施設高分子構造解析グループ実験室 (仮称) の立ち上げを行う一方、代表研究者はアルダブラゾウガメから 2 種類のヘモグロビン (Hb A と Hb D) を精製し、Hb A ならば Hb D を構成しているすべてのグロビン鎖の全一次構造の決定を行った。

研究課題の Hb D の結晶化については、研究支援者の桑田隆生氏 (当該研究課題の研究従事者の一人) が微小結晶の作成に成功した。

**(7) 自由電子レーザーの組織再生効果に関する研究**

清水 典佳 (日本大学歯学部)

自由電子レーザー光が未だ得られていないため、低出力半導体レーザー照射器を用い、レーザー照射による骨形成メカニズムについて検討した。ラット胎仔由来培養骨芽細胞に 10 分間レーザー照射を行い、骨の成長因子である insulin-like growth factor (IGF-I)-I のタンパク及び遺伝子発現について検討した。またリコンビナント(r)IGF-I や IGF-I 抗体を作用させてレーザー照射したときの bone nodule 形成能についても検討を行った。

**(8) 放射光 CVD・PLD 法による環境半導体成膜**

鈴木 薫 (日本大学理工学部)

YAG レーザー光の第 3 高調波を用いた Pulse Laser Deposition 法により環境半導体をシリコン基板上に成膜する研究を予備実験として開始した。

**(9) パラメトリック X 線による多波長観測と画像解析**

鈴木 薫 (日本大学理工学部)

YAG レーザー光の第 3 高調波を用いた Pulse Laser Deposition 法により環境半導体をシリコン基板上に成膜し、その膜質を評価するために実験装置としては微小部 X 線回折装置と粉末 X 線回折装置を用いている。結晶構造の解析にはリードベルト解析法を用い、基本的な解析を行っている。

**(10) 自由電子レーザーを用いた歯質切削条件に関する研究**

西山 實 (日本大学歯学部)

#### (11) フォトカソードマイクロ波電子銃の開発

早川 建（日本大学量子科学研究所）

マイクロ波共鳴空洞及びビームトレースのシミュレーションコードを用いて、空洞内電磁場分布及び、その電磁場による電子ビームの軌道の解析を行い、最適な空洞形状を求めた。これに基づいて、マイクロ波電子銃の設計を行い、前年度に製作を完了した。

フォトカソードをドライブするレーザーは、量子効率を考慮して、YAG レーザーの 3 倍高調波を増幅して使うことにした。パルス幅、約 55psec、繰り返し、89.25MHz、パルス列の長さ 20μsec、パルス当たり 40μJ のエネルギーを持つドライブレーザーを製作した。

#### (12) パラメトリック X 線放射による波長可変単色 X 線源の開発

早川 恭史（日本大学量子科学研究所）

ゴニオメータのリモート制御システムを PXR 発生装置に実際に導入した。

また、PXR 専用ビームラインに関して低ビーム電流での特性試験を開始したが、新しいビームラインであるため適切な運転パラメータを見つけるまでには至っていない。そのため、X 線ビームライン下流に設置される集光光学系の性能評価を優先し、数値シミュレーションを行なった。

#### (13) コヒーレントで単色な X 線・光に誘起されたクラスター、ナノ結晶の新光機能の探索

望月 章介（日本大学文理学部）

$\text{Eu}_2\text{O}_3$  のナノ粒子・薄膜等やナノメートル空洞に閉じ込められた炭素フラーレン  $\text{C}_{60}$  や  $\text{C}_{70}$  が紫外レーザー光の下で室温にて永久的な光スペクトル変化を示し、これらが別種の雰囲気ガスの下での紫外レーザー光照射や別の波長のレーザー光照射で元の状態に戻せる事を世界に先駆けて発見した。この研究ではこの我々が発見した逆行可能な紫外レーザー光誘起光スペクトル変化現象を中心に新たな物質を追加して詳細な研究を行った。

#### (14) 放射光によるスーパーダイヤモンドの合成

山本 寛（日本大学理工学部）

まず、 $\text{C}_{60}$  集合体に対する基本的なポリマー化反応機構を調べるために有用な  $\text{C}_{60}$  超薄膜を分子線エピタキシャル装置により作製した。

一方、一定の高圧力を真空中で加えることの出来る、特殊な真空チャンバーならびにその中に設置される、 $\text{C}_{60}$  試料を圧力下で保持するアンビルを作製した。このアンビルには所望の紫外線を試料に照射できる窓を設置した。

上述された各研究に関する現状の詳細は 3 に述べられているので参照されたい。

# 研究会等の開催

---

## 電子線利用研究シンポジウム

会場：日本大学理工学部船橋校舎 13 号館 1315 教室

日時：平成 13 年 12 月 26 日

### 10:10~10:30

「日本大学電子線利用研究施設の現状と将来」	日本大学原子力研究所	佐藤勇
「パラメトリック X 線源」	日本大学原子力研究所	早川恭史
「RF 電子銃用 YAG レーザー」	日本大学原子力研究所	早川建
「将来計画、日大 SOR 構想」	日本大学原子力研究所	田中俊成

### 11:15~12:15 特定領域研究「パネル・ディスカッション」

「奇妙な波長可変コヒーレント単色光の探求」

日本大学原子力研究所	佐藤勇	早川恭史	早川建	田中俊成
高エネルギー加速器研究機構	榎本収志	大沢哲		
川崎重工	河合正之			

「新機能物質探索の 2 色同期光の開発」

日本大学原子力研究所	早川建	田中俊成
------------	-----	------

「自由電子レーザー放射光によるスーパー・ダイヤモンドの合成」

日本大学理工学部	山本寛	岩田展幸
----------	-----	------

「半導体素子材料に対する電離放射線照射効果の研究」

日本大学理工学部	大西一功	高橋芳浩
日本テキサスインスツルメンツ	西岡泰城	

「パラメトリック X 線を用いた高圧化における XANES 研究」

日本大学文理学部	滝沢武雄	高橋博樹
東海大学	松下裕亮	

「コヒーレントで単色な X 線・光に誘起されたクラスターナノ結晶の新機能探索」

日本大学文理学部 望月章介 村山和郎 浅地哲夫 中西太宇人  
東北大学 伊師君弘

「自由電子・ピコ秒レーザー高光子場による大気汚染物質の光化学反応の方向制御」

日本大学工学部 奥山克彦 鈴木敢 沼田靖

## 11:15~12:15

「微小部 X 線解析と粉末 X 線解析の応用研究について」

日本大学松戸歯学部 寒河江登志朗

「歯の組織構造と象牙質結晶の配向性の検討」

日本大学松戸歯学部 三島弘幸

「ゾウガメヘモグロビンの最近の成果」「タンパク質結晶構造解析室の設備」

日本大学医学部 宍倉文夫  
日本大学電子線利用研究施設 桑田隆生

「硬組織蛋白の X 線解析による解析に何を期待するか」

日本大学松戸歯学部 小澤幸重

「X 線検査時被験者から発生する微量な散乱線の測定に関する研究」

日本大学医学部 浦橋信吾 田中良明

「高出力ダイオードレーザー装置の使用経験」

日本大学医学部 藤村敬 吉田利夫 岡田清己



## 2. 研究設備

# 研究設備

本研究施設は図1の鳥瞰図に示すように鉄筋コンクリート2階建てで旧実験棟と新実験棟（写真1）に区分されている。実験棟は2回の増築によって総床面積が2223m<sup>2</sup>に拡張された。

新実験棟（1303m<sup>2</sup>）にはレーザー照射実験室（9室）、資料分析室（5室）、実験準備室（6室）、研究室（7室）、セミナー室、資料室、物品管理室、管理事務室が用意された。レーザー照射実験室と実験準備室は暗室構造であり、微光測定も可能である。

一部の実験室では有機ガスが取り扱えるように強制排気装置（ドラフター）を完備している。半導体と新素材を開発するためのレーザー照射実験室はクリーンルームになっており、半導体と新素材開発室はクリーン度がクラス1000とクラス10000である。既設実験棟（920m<sup>2</sup>）には加速器本体室、モジュレーター室、電源室、空調室、制御室、放射線管理室、実験室、測定室、研究室、電子ビーム加速テスト室、搬入室等が設けられている。加速器室には写真2に示すように電子線形加速器（50～125MeV、0～200mA、1～20μs、0.5～12.5Hz、～6.25kW）が設置されている。

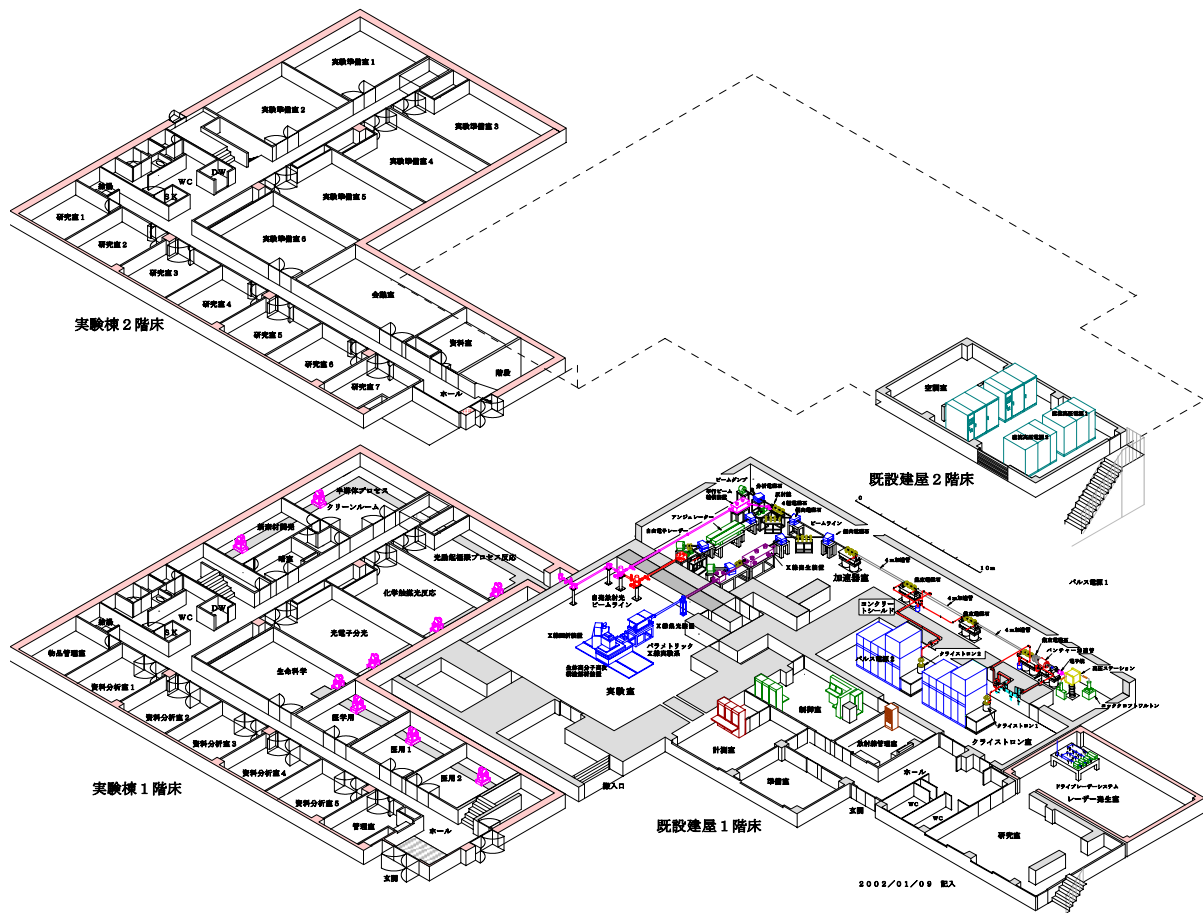


図1 日本大学電子線利用研究施設の全景鳥瞰図



写真1 学術フロンティア推進事業によって増築した新実験棟

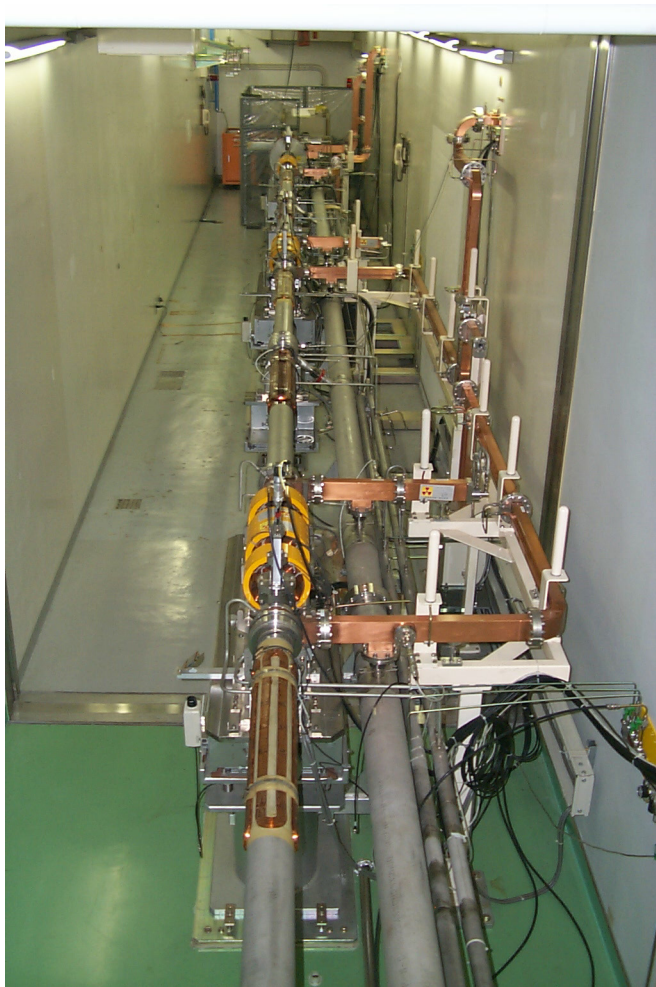


写真2 下流から眺めた 125MeV 電子線形加速器

表1 電子線形加速器性能仕様

電子エネルギー	50~125	MeV
電子銃	直流型電子銃	
電子ビーム電流	200	mA
電子ビームパルス幅	20	$\mu$ s
規格化エミッタンス	30	$\pi$ mm · mrad
加速繰り返し	0.5~12.5	Hz
加速周波数	2856	MHz
加速管の全長	12.3 m (0.3 m + 4 m × 3)	
クライストロン数	2	本
クライストロン	30	
最大出力電力	30	MW



レーザー照射実験室には、イオン放電槽とダイヤモンドアンビル、イメージ増強型極低迷光高分解能分光装置（写真3）、飛行時間質量分析装置、フーリエ変換高分解能自動認識分光器（写真4）、バイオベンチ、低温冷凍庫、マイクロアレイ解析システム（写真5：遺伝子アレイ読み取り用）、多関節自由腕レーザー導入装置（写真6）等が用意してある。更に、新実験棟の資料分析室（5室）には、拡張型粉末結晶 X 線回折装置(写真7)、タンパク質自動結晶 X 線高次解析装置（写真8）、微小部 X 線自動回折装置（写真9）、コールドルーム（写真10：タンパク質結晶成長用）、化学洗浄処理装置、等を用意しており、これらの実験装置は共同利用実験に使用できる。X 線自動解析にはイメージングプレートが用いられている。本研究施設の特徴は、1) 自由電子レーザー利用実験では事前に実験準備、2) パラメトリック X 線利用研究では X 線回折装置を使って事前に予備実験等が研究施設内で出来ることである。



写真3 イメージ増強型極低迷光高分解能分光装置



写真4 フーリエ変換高分解能自動認識分光器



写真5 医療1レーザー照射室に設置されているマイクロアレイ解析システム



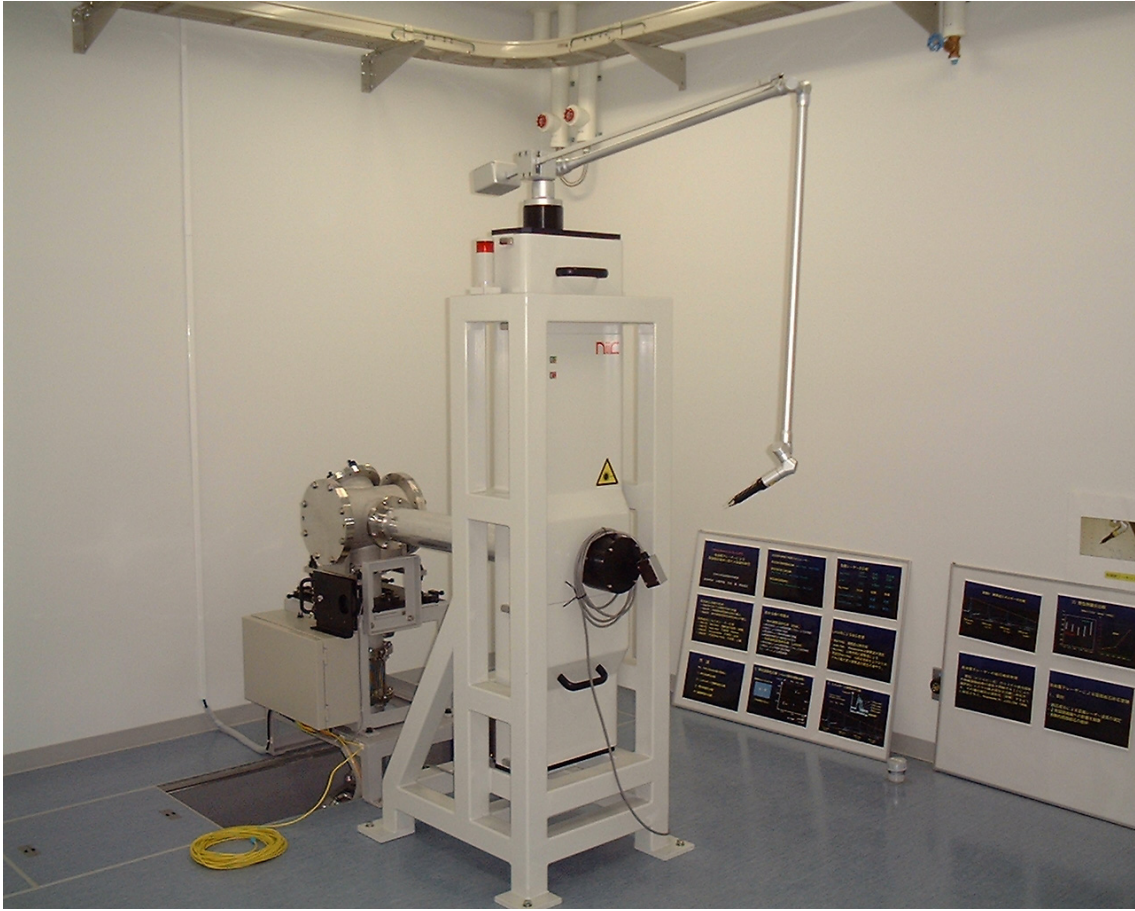


写真6 医療2 レーザー照射室に設置されている多関節自由腕レーザー導入装置



写真7 資料分析室に用意されている予備実験用の拡張型粉末結晶 X 線回折装置





写真 8 資料分析室 4 に設置された予備実験用タンパク質 X 線自動解析装置



写真 9 資料分析室 1 に設置されている予備実験用微小部 X 線回折自動解析装置



写真 10 資料分析室 3 に設置されているコールドルーム（タンパク質結晶成長用）

また、加速器室には自由電子レーザーシステム（ $5\sim 0.35\mu\text{m}$ ）とパラメトリック X 線源（ $3\sim 30\text{keV}$ 、 $3\times 10^{11}$  光子/秒）が写真 11（右）と（左）に示すように設置されている。

既設実験棟の実験室には写真 12 に示すような移動式のタンパク質高次自動解析装置と微小部自動回折装置がそれぞれ設置されている。又、レーザー発生装置室には写真 13 に示すように高周波電子銃を励起するための YAG レーザーを基本波とする 355nm ドライブレーザー等が設置されている。

さらに、旧実験棟から新実験棟のレーザー照射実験室には真空パイプを通して自由電子レーザーを輸送する。



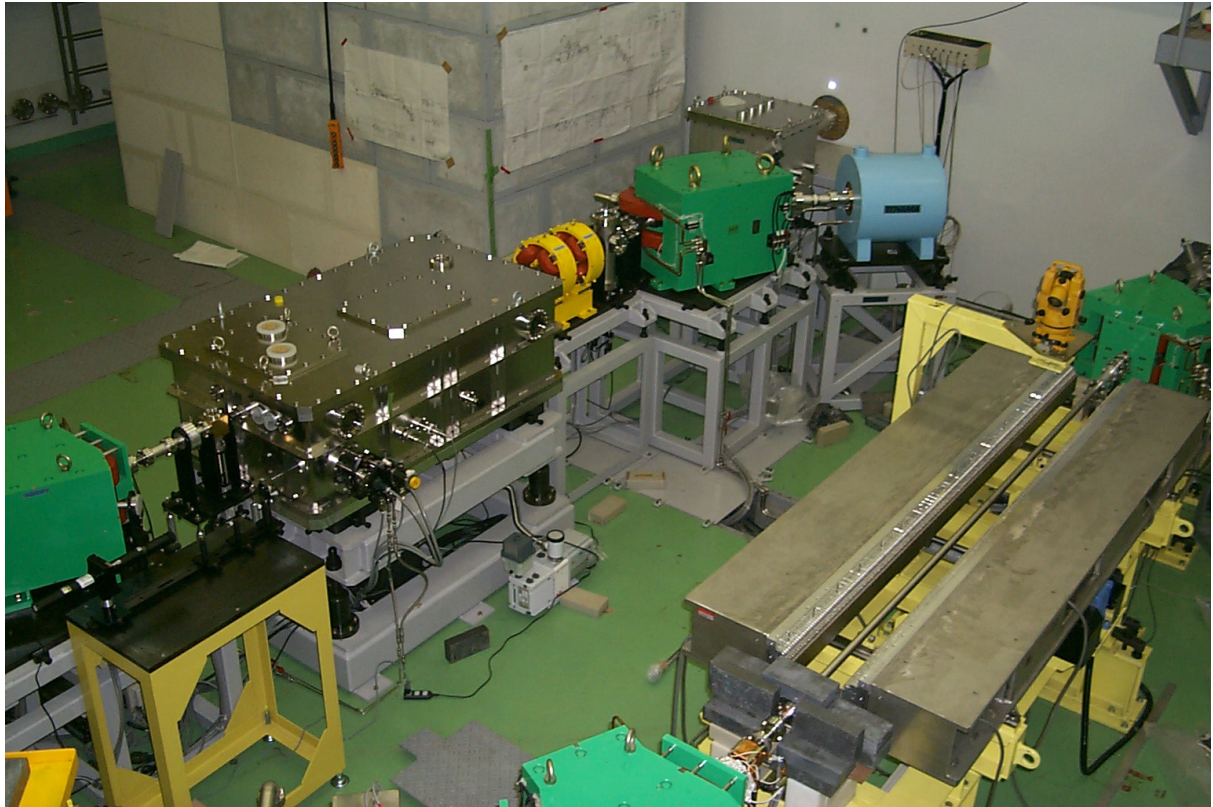


写真 11 加速器室に設置されているパラメトリック X線発生装置（左）と自由電子レーザー発生装置（右）

表 2 パラメトリック X線性能仕様

照射電子エネルギー	~125	MeV
照射電子ビーム電流	~200	mA
照射電子ビーム	20	μs
パルス幅		
照射繰り返し	0.5~12.5	Hz
照射ビーム電力	6.25	kW
発生標的	シリコン単結晶 (厚さ 0.2mm)	
X線フラックス	$4 \times 10^{14}$	/sec·Duty
X線エネルギー	3~30	keV

表 3 自由電子レーザー性能仕様

	紫外用	赤外用	
自由電子レーザー波長	0.35~1.8	0.8~5.0	μm
平均レーザー出力	6	6	W
アンジュレーター長さ	2.4	2.4	m
アンジュレーター周期長	24	48	mm
アンジュレーター周期数	100	50	
ギャップ長	11~15	28~35	mm
アンジュレーター構造	ハルバック型	ハルバック型	
磁石材料	永久磁石 (NdFeB)	永久磁石 (NdFeB)	
中心磁束密度	0.29~0.49	0.20~0.30	T
K 値	0.65~1.1	0.65~1.1	
光空洞共振器間長さ	6718	6718	mm
反射鏡制御	5 軸制御	5 軸制御	

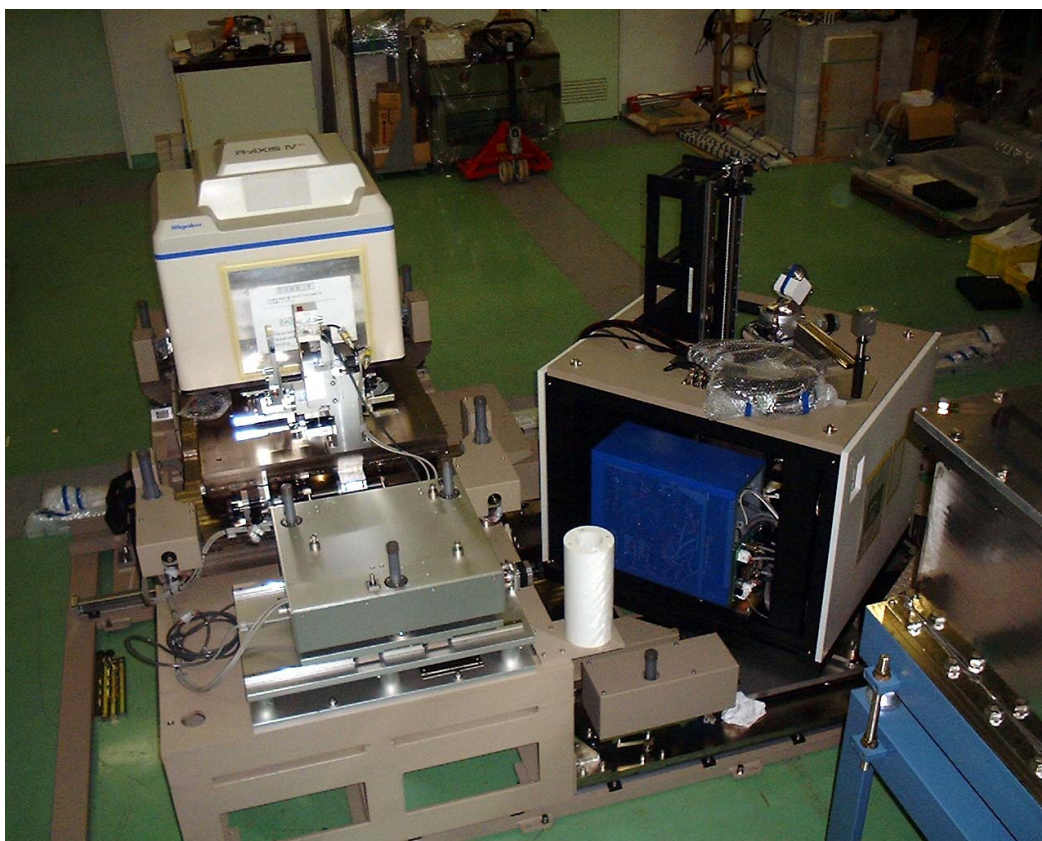


写真 12 実験室に設置されている移動式タンパク質高次自動構造解析装置（左）と微小部 X 線自動回折装置



写真 13 高周波電子銃を励起するための YAG レーザーシステム



各実験室では、図2に示すようなレーザー導入装置を動作させることにより、3種類（0%、1%、100%）のレーザー強度を選択でき各実験装置に取り込むことができる。写真14にはレーザー導入装置を示している。

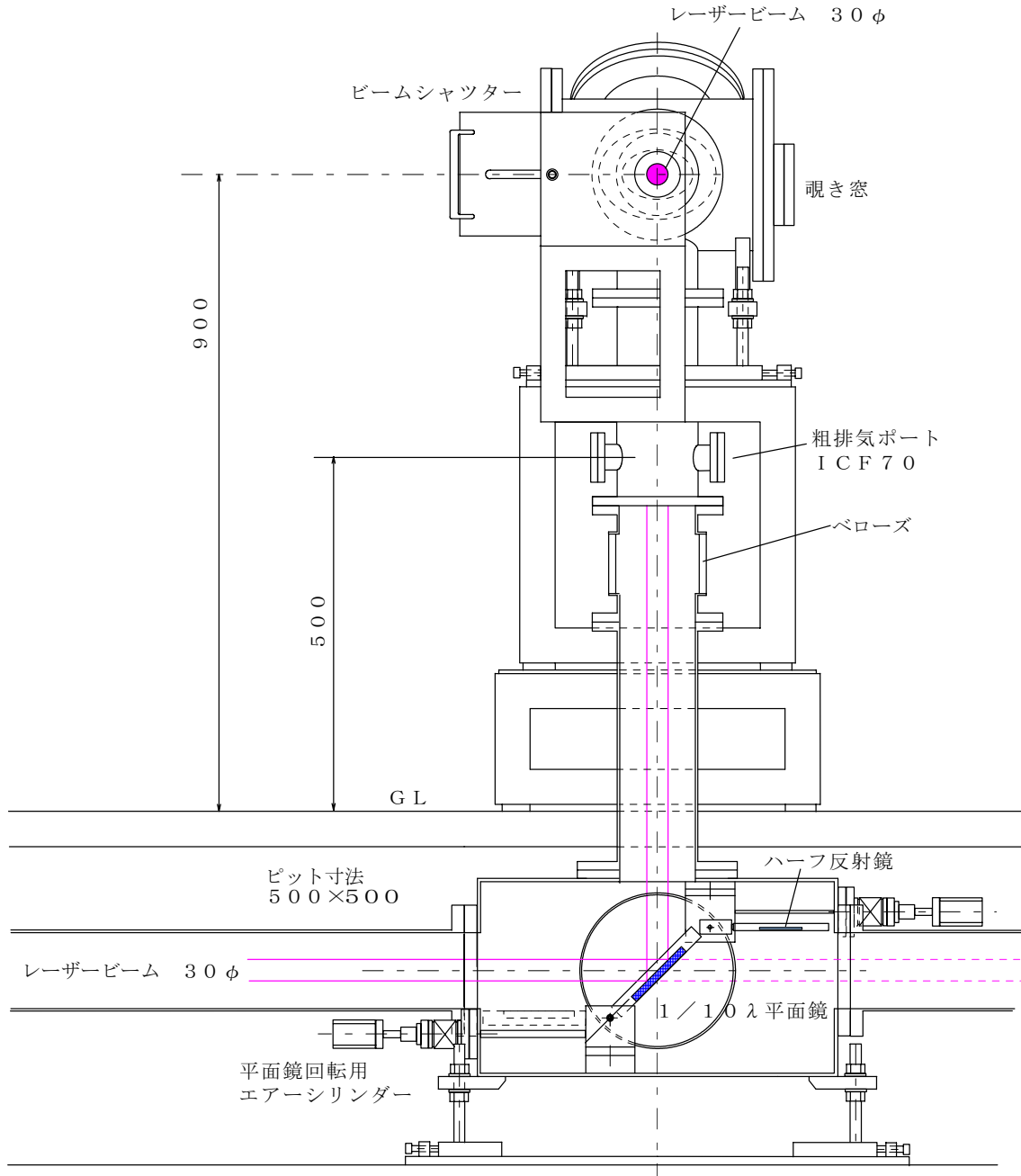


図2 ピットに設置されているレーザービームラインからレーザー引き出す装置（レーザー導入装置）



写真 14 レーザー照射実験室のレーザー導入装置の外観

## 共同利用実験

自由電子レーザーの共同利用実験は、本研究施設が放射線施設検査に合格した後、直ちに本格的な耐久テストと  $0.8\sim 5\mu\text{m}$  の波長可変実験を行い、パラメトリック X 線は、ビームラインの変更申請し施設検査に合格後に世界最初の本格的な実用化に挑戦し、9 月にはテスト実験を行い、10 月から利用実験をテスト的に開始する予定である。定常時のユーザー時間は、5 日/週、8 時間/日を予定しているが、現状では、4 日/週、5 時間/日が精一杯である。

本研究施設の実質的なスタッフは、2002 年 5 月現在、教授 2 名、助教授 1 名、専任講師 1 名、ポスト・ドクター（学術フロンティアの支援スタッフ）2 名であり、本格的な利用研究が始まると、加速器運転、維持、改善に自由電子レーザーとパラメトリック X 線の調整、実験室整備、更

に、先端的な光源開発と共同利用実験者の支援等が加わると、現在の陣容で本研究施設の維持と運営することは困難であり、スタッフの増員が必要となる。

学術フロンティア推進事業には学内（理工、文理、工、医、歯、松戸歯、生物資源科学の6学部）から35名と学外（KEK、東京理科大、明海大、ニューヨーク大、徳島大、筑波大、東北大）から7名が研究分担者として参加し、15の研究グループに組織されている。これ以外に、学内には生産工学部と薬学部から共同利用実験の申込があり、学外は東京大学や北海道大から実験参加希望が伝えられている。

# 光源と測定

## 自由電子レーザー

自由電子レーザーは、自由に動き回れる電子ビームが図3に示すような経過を経てレーザーに成長する。即ち、光速度に近い電子ビームが磁石を交互に並べた間を通過すると蛇行運動して進行方向に特定な波長の強い光を放出する。その波長は光速度と電子速度の差が小さいほど短くなる(ドップラー効果)。この装置の両外側に2枚の鏡を置いて、この装置を次々に通過していく電子ビームが放射する光を蓄積すると、図3に示すように、時間経過と共に蓄積光は次第に強くなっていく。一方、後続の電子ビームも蛇行運動すると光を放出するが、次々に追い越していく蓄積光の強烈な電磁場の影響を受けて、電子ビーム自身に光の波長間隔の濃淡(粗密)ができる。

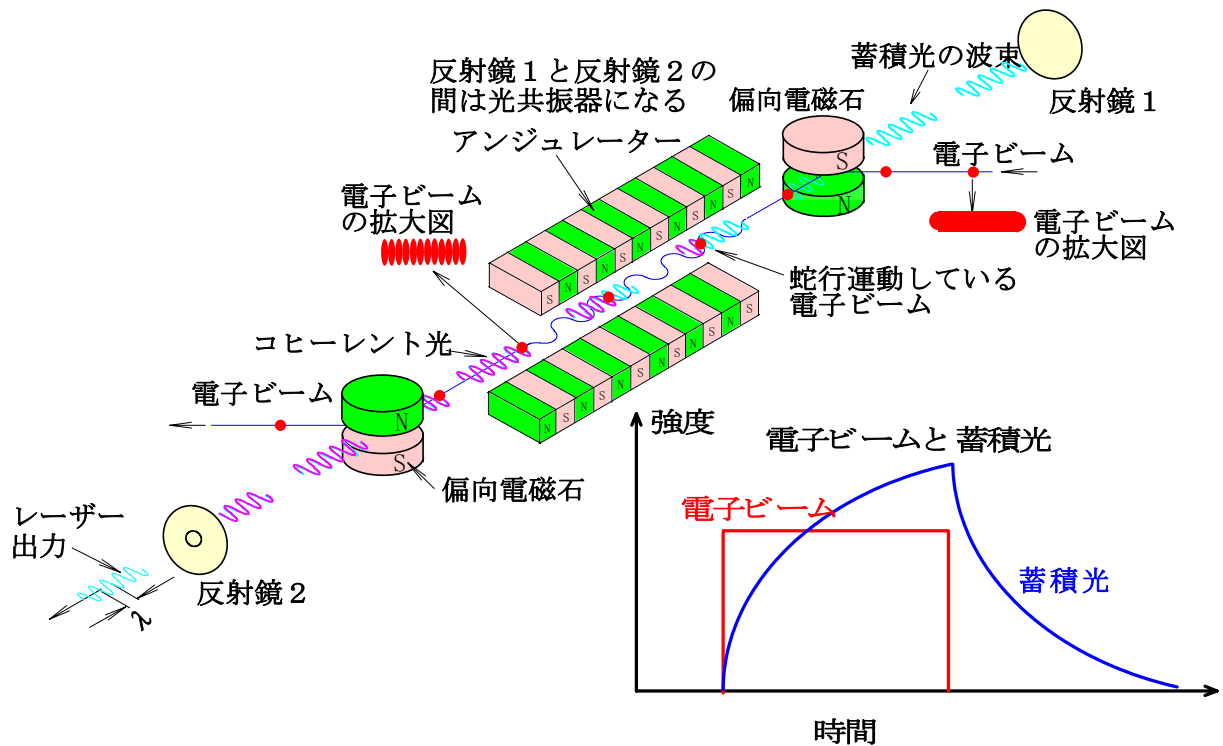


図3 自由電子レーザーの概念図

蓄積光は電子ビームの濃淡を追い越す度に、電子ビームからエネルギーを受け取り、図4に示してあるように、自由電子レーザーの電磁場振幅(黄)は指数関数的に増大し発振状態に成長する。写真15は赤外線の高感度検出器(InSb)と自由電子レーザーの計測システムを示す。



図4 1.5 $\mu\text{m}$  の自由電子レーザー発振状態。垂直軸：ビーム電流波形（緑）、高増幅度で測定した光強度波形（黄）、低増幅度で測定した光強度波形（桃）は増幅器が飽和した状態。水平軸：4 $\mu\text{s}/\text{div}$ 。



写真15:高感度赤外線検出器（白）と光学システム。



本研究施設では、自由電子レーザー発振を容易にするため、レーザー発振波長（ $1.5\mu\text{m}$ ）の反射率を高めた誘電体多層膜の鏡を用いている。従って、電子ビームが蛇行運動するときに放射する光（自発光）の高調波（可視光成分）は鏡を簡単に通過する。写真 16 に示すように、可視光領域における鏡の反射率が低いにも係わらず、自由電子レーザーが発振すると自発光の 3 次高調波（可視光）強度も強烈に増大している。これは、超放射現象や自発光自己増幅では説明がつかない。この光の強さを説明するメカニズムを色々な面から探究中である。

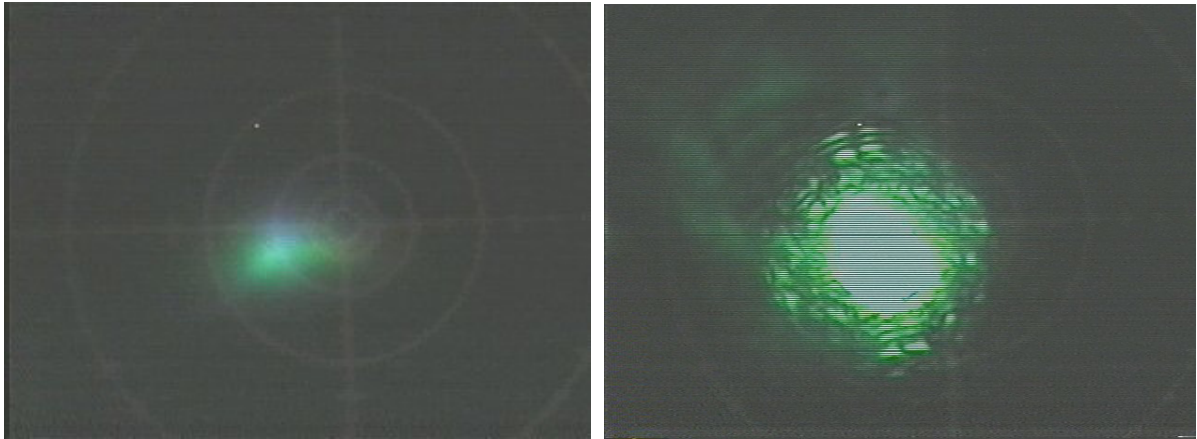


写真 16 自由電子レーザー発振（ $1.5\mu\text{m}$ ）とその 3 次高調波強度（ $0.5\mu\text{m}$ ）の比較。（左）：発振しないときの 3 次高調波強度。（右）：発振したときの 3 次高調波強度

最近では、自由電子レーザーが不安定ながらも発振が数分から数十分間持続するようになり、自由電子レーザーが不安定性になる原因が 2 つに大別されている。1 つは加速器であり高周波加速位相の安定性が不十分であり、他の 1 つは室温変化による自由電子レーザー発生装置のゆがみにある。特に光空洞共振器の架台の応力歪みが温度変化によって複雑な動きをする事が明らかになった。

自由電子レーザーは、蛇行する電子ビームから光電場へのエネルギーの誘導放射であり、その逆過程がレーザーによる電子加速となる。従って、光の波長を単位とする精密度が要求されるために、自由電子レーザーが短波長になる程、高精度の装置が必要となる。例えば、2 枚の鏡の間隔は約  $6718\text{mm}$  であるが、鏡の間隔が約  $1\mu\text{m}$  ずれると自由電子レーザーの発振状態は明確に変化し、最適な発振状態から  $4\mu\text{m}$  ずれると自由電子レーザーの発振状態は完全に停止する。更に、電子ビームとレーザーの方向が  $10\mu\text{rad}$ （約 1 万分の 6 度）ずれると自由電子レーザーの発振状態は変化する。これは自由電子レーザー発生器の中央で電子ビームの中心軸とレーザーの中心軸が約  $10\mu\text{m}$  ずれることを意味する。もし、建物床の温度が摂氏 1 度変化すると鏡の間隔は約  $70\mu\text{m}$  ずれることになる。幸いに、加速器室は土中にあり、熱容量が大きいので急激に温度は変化していない。しかし、室温が 1 度変化すると、変化の途中でレーザー発振は完全に停止してしまう。この対策として、温度変化に対応する追尾システムの構築に着手した。

このように、電子ビームと光との相互作用に依存する自由電子レーザーにはミクロの高精度と高安定度が要求されるために、究極の加速器と云われている。



## パラメトリック X 線

パラメトリック X 線は図 5 に示すように、規則正しく並んだ結晶（単結晶）を高エネルギーの電子ビームで摂動すると、原子が励起され、励起状態から緩和されるときに X 線が発生する。その X 線のエネルギーは結晶構造と周期構造に依存し、結晶を回転することによって変えることが出来る。単結晶に高エネルギーの電子ビームを照射すると、同時に電子ビームは結晶で制動を受け  $\gamma$  線も輻射するが、パラメトリック X 線と  $\gamma$  線は放射される角度が異なる。

図 6 に示すように、第 1 の単結晶から放射されたパラメトリック X 線はもう 1 つの単結晶（第 2 単結晶）を使って反射（ブラック反射）させて X 線と  $\gamma$  線は分離することが出来る。

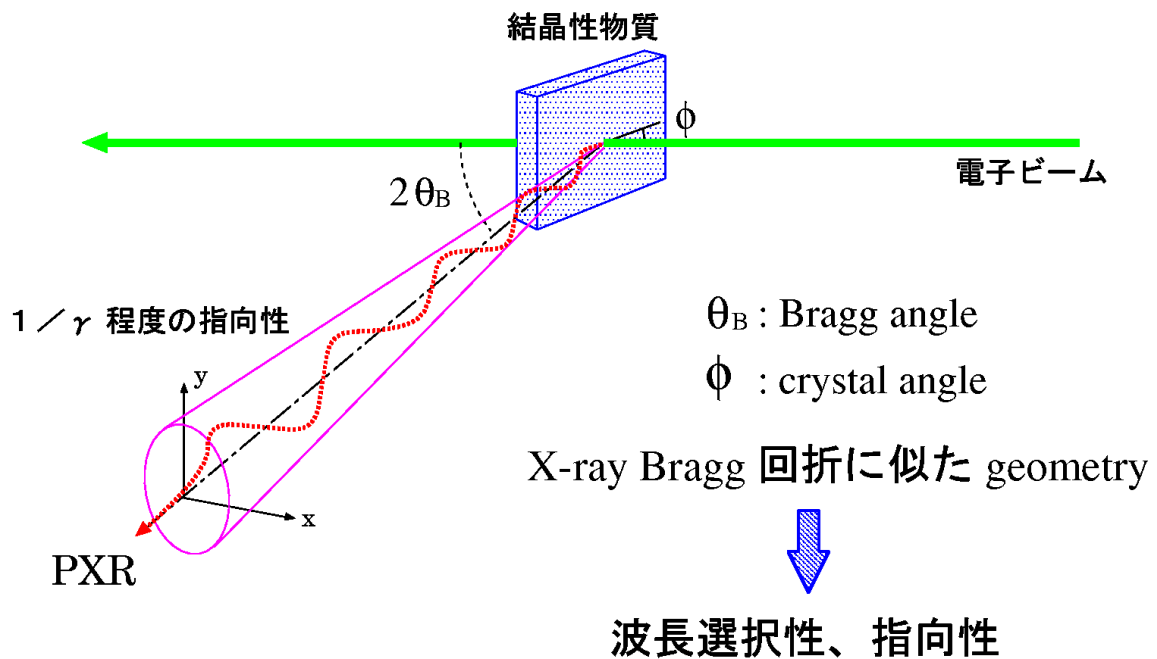


図 5: パラメトリック X 線発生概念図

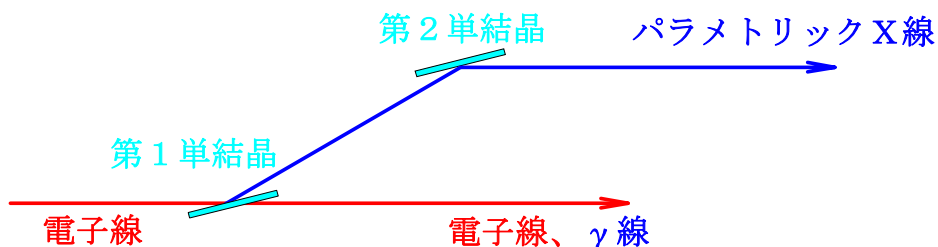


図 6: パラメトリック X 線発生装置

図7には、100MeVの電子1個を1mm厚さの第11単結晶であるSi結晶の(111)面に当てたとき、第1単結晶から放射されるパラメトリックX線のエネルギーと強度の角度依存性をスペクトル確率で示したものである。

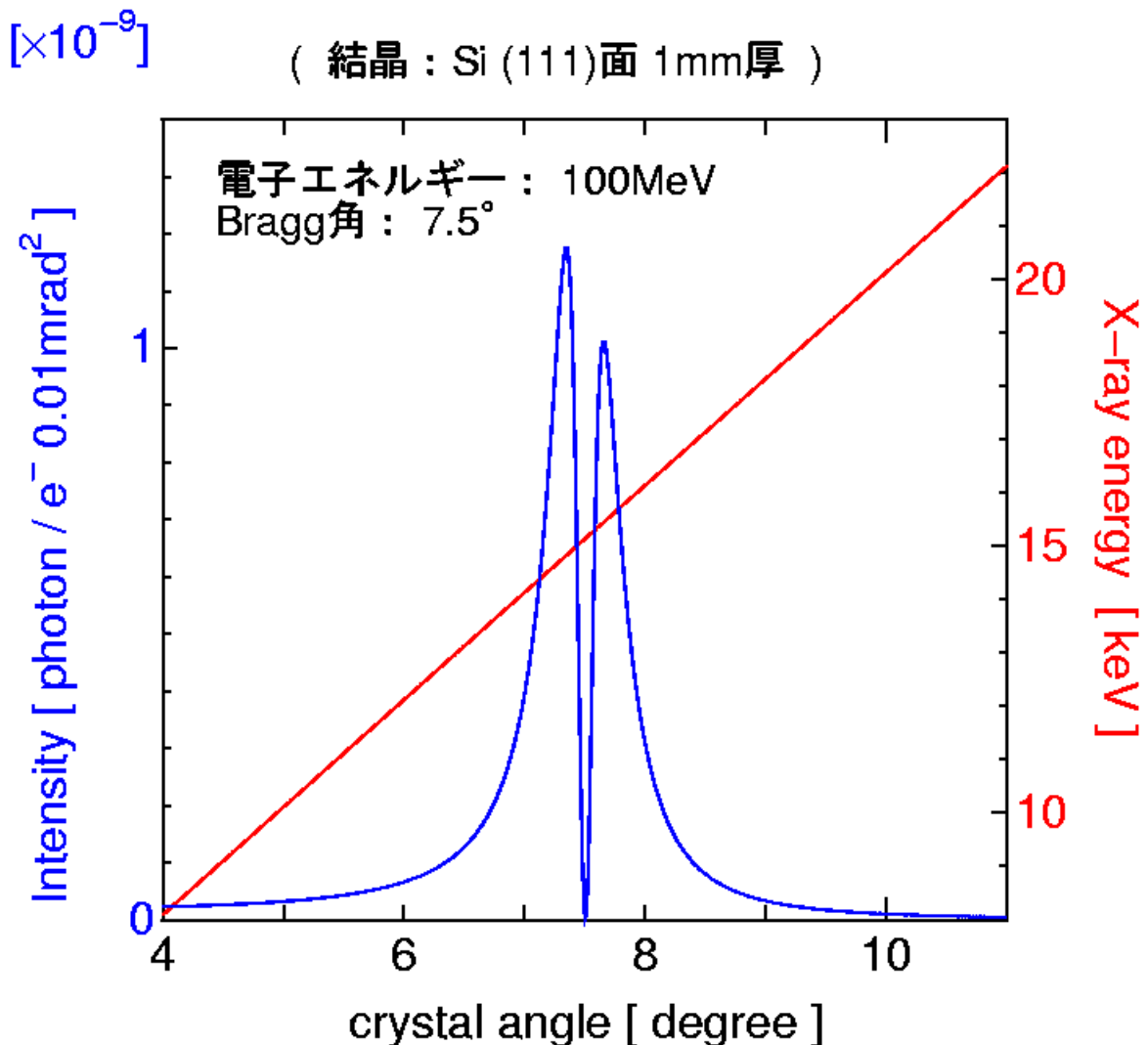


図7 電子の単結晶入射角度に対するパラメトリックX線のエネルギーと強度の依存性

図8には、電子ビームの第1単結晶に対する入射角と、第1単結晶から発生するパラメトリックX線のエネルギーと強度をシミュレーションした結果の1例を立体像に示したものである。

図9には図8に示された第1単結晶から放射されたパラメトリックX線を更に第2単結晶をモノクロメーターとして使い、ブラック反射させたパラメトリックX線のエネルギーと強度の角度依存性を立体的に示したものである。

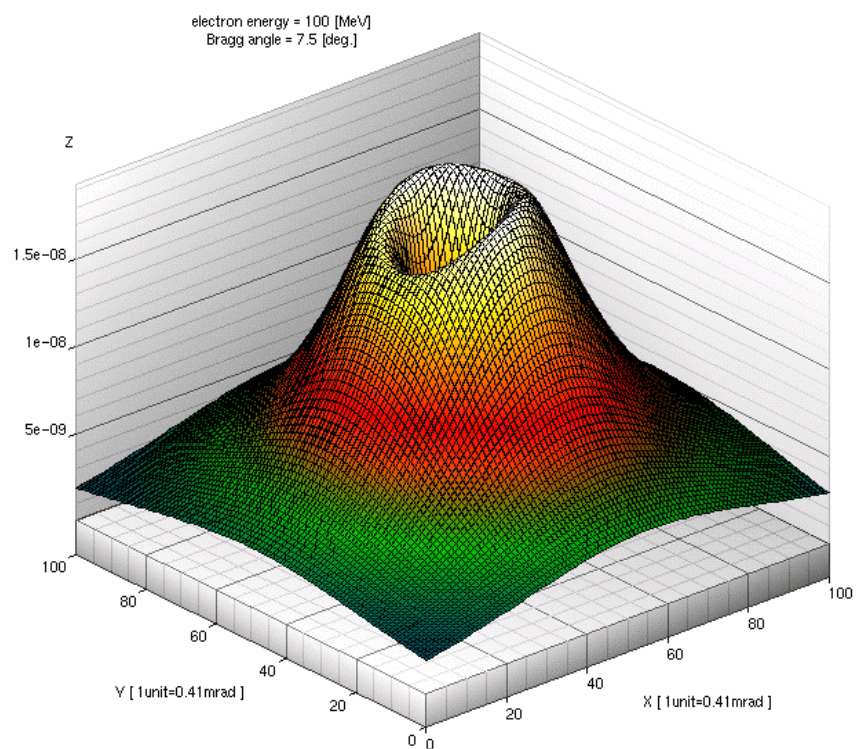


図8 第1単結晶から放射されるパラメトリック X線のエネルギーと強度の角度依存性とスペクトル分布の立体像

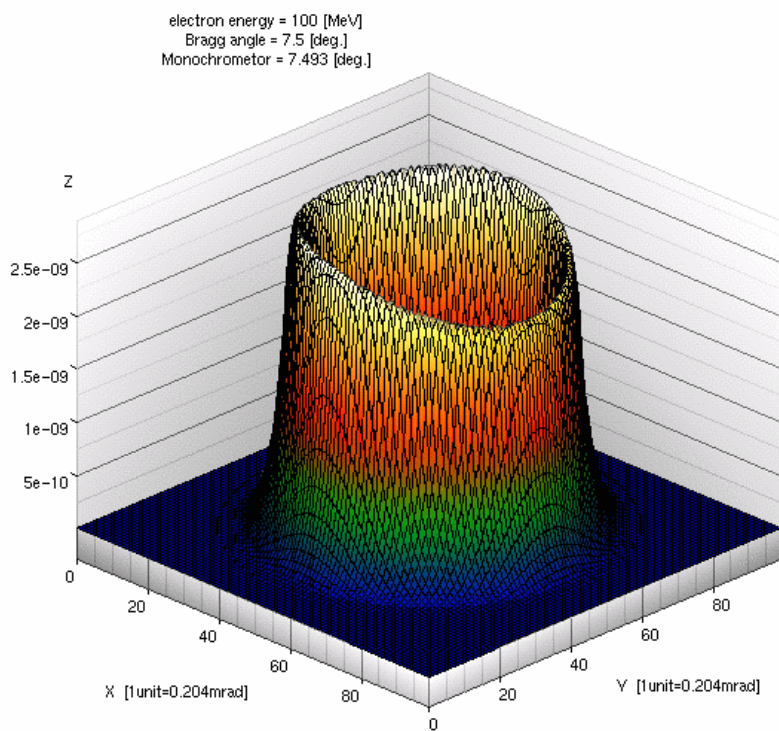


図9 第2単結晶でブラック反射したパラメトリック X線のエネルギーと強度の角度依存性とスペクトル分布の立体像

第2単結晶で反射したパラメトリック X 線は、加速器室と実験室の間の放射線シールドを通過し、実験室に設置されている2枚のトロイダル鏡で集光され、写真12に示されている移動式タンパク質高次自動構造解析装置（左）や微小部 X 線自動回折装置に輸送される。

## X 線の測定システム

現在、タンパク質などの高分子は KEK にあるフォトンファクトリーや西播磨にある Spring-8 等の大型放射光実験施設に設置されている電子貯蔵リングのシンクロトロン放射光（X 線）を使って、タンパク質の構造解析が行われている。しかし、本研究施設では、高分子の構造解析にパラメトリック X 線を使うことを試みている。又、タンパク質 X 線構造解析や微小部 X 線回折の計測には、X 線フィルムやシンチレーションカウンターの代わりに、写真16、図10に示すような2次元の X 線回折像が検出できるエネルギー蓄積型放射線検出器イメージングプレート（IP）が使用されている。イメージングプレートは X 線フィルムより約1桁分解能は劣るが、検出器感度は約2桁高く、ダイナミックレンジは2桁広く、感度が一様で大面積の2次元検出ができる利点がある。更に、検出はフレキシブルで湾曲した状態での露光ができ、1枚の検出器で露光、読み取りの繰り返し使用が可能であり、2次元の大面積を測定する時間を大幅に短縮できる。即ち、X 線露光、読み取り、消去を一連の動作で制御ができ構造解析が可能となる。

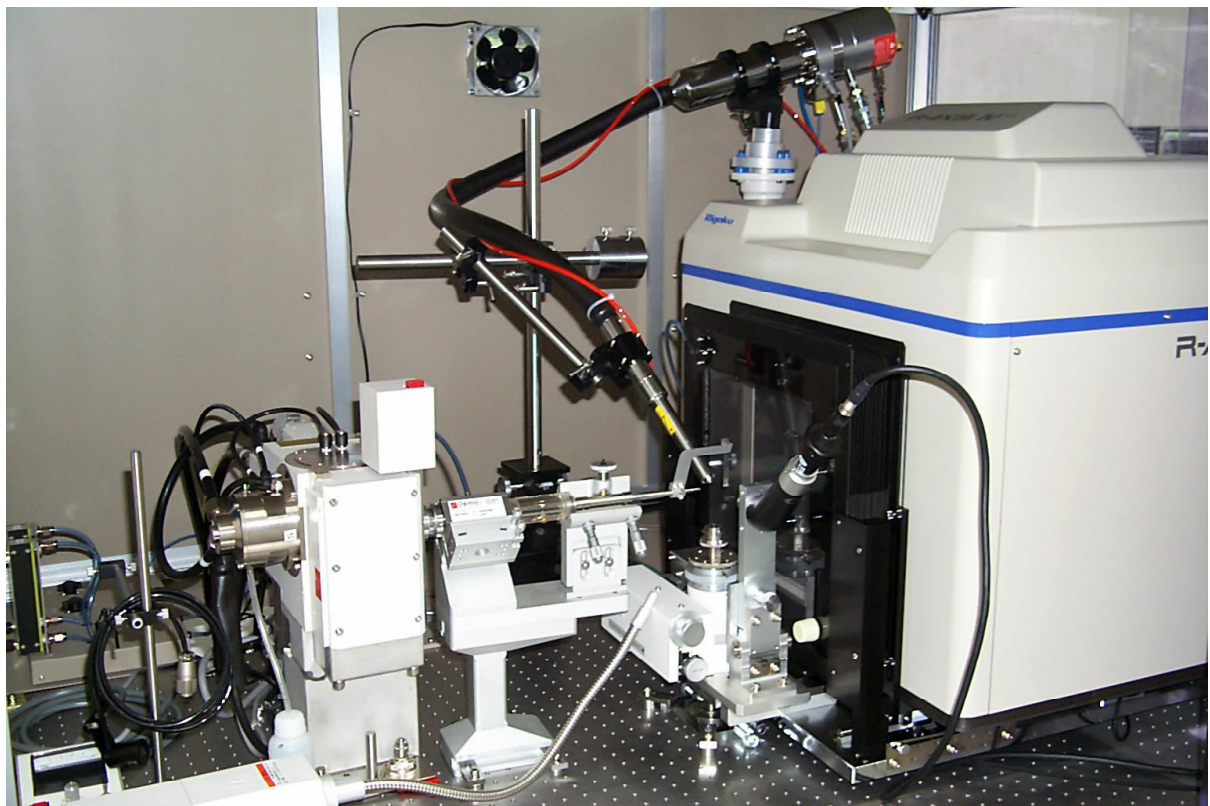


写真16 タンパク質 X 線高次構造解析装置、X 線発生装置（左）、試料（中央）、イメージングプレート（右）



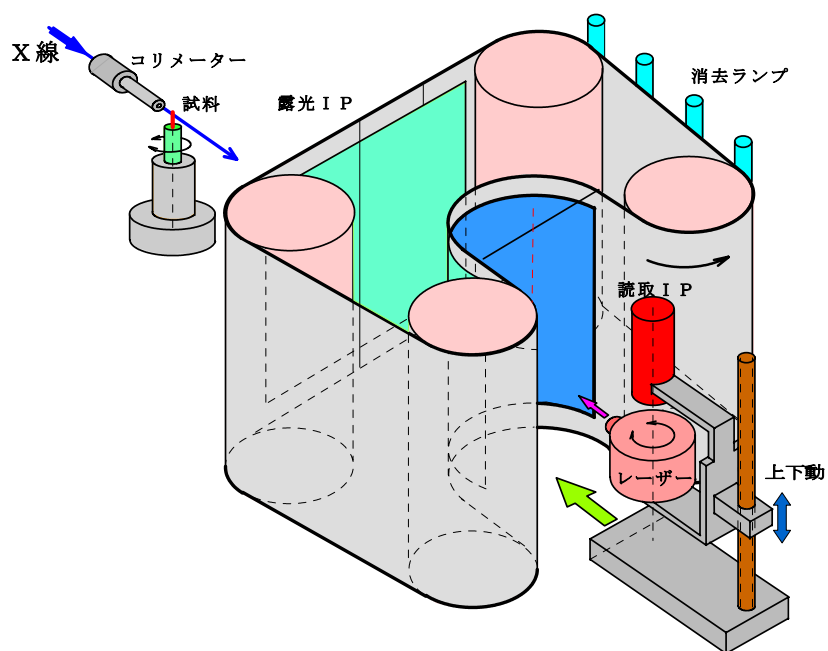


図 10 X線露光、読取、消去の動作をイメージングプレート（IP）システムを使ったX線検出器

高分子構造解析グループは、学術フロンティア推進事業の研究計画に血液タンパク質であるヘモグロビンの構造解析を取り上げ、パラメトリックX線による立体構造解析に挑戦している。

その第一段階として、卵白リゾチームの結晶を作成して予備実験用X線回折装置（イメージングプレート）を使って卵白リゾチームの構造解析を試みた。その結果、立体構造分子モデル化に成功した。図11には、高分子構造解析グループによって解析された卵白リゾチームの立体構造分子モデルを、図12に微小部X線構造解析グループによって解析された唾石結晶の2次元像を示す。

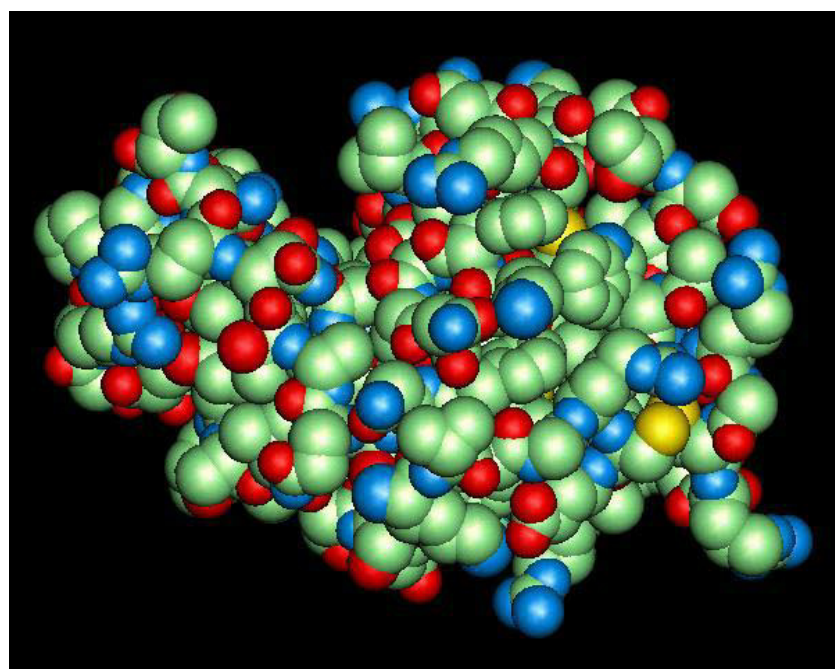


図 11 卵白リゾチームの立体構造分子モデル

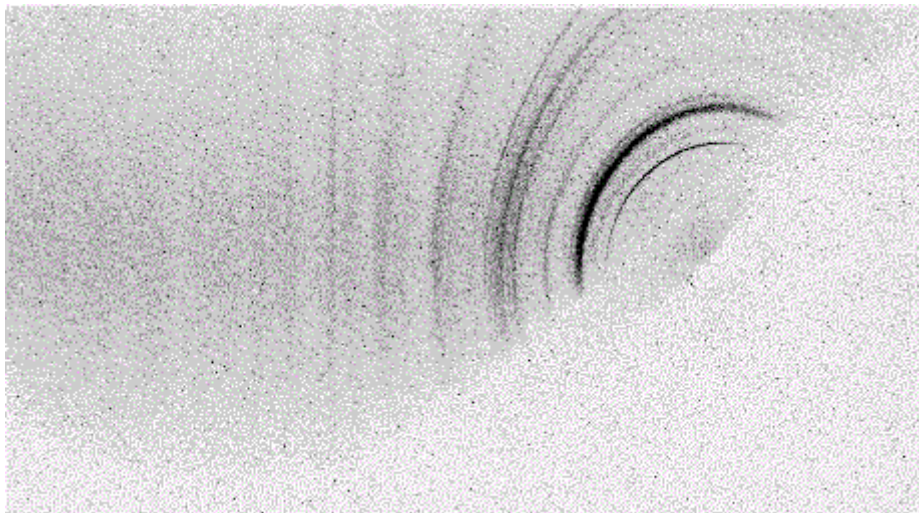


図 12: ヒトの唾石の微小部 X線 2 次元回折像

### 3. 各作業グループからの報告

# 自由電子レーザーの炎症メディエーター産生 骨形成への影響

---

## 研究代表者

日本大学 松戸歯学部 教授 安孫子 宜光

## 研究従事者

日本大学 松戸歯学部 教授 安孫子 宜光

日本大学 松戸歯学部 講師 平塚 浩一

日本大学 松戸歯学部 講師 多田 充裕

## 研究目的

低出力レーザー照射は創傷、難治性潰瘍に治癒効果があると報告されて以来、炎症、疼痛に対する抑制作用、骨折の治癒促進作用も証明されている。このような背景からレーザー照射の積極的な応用が期待されるが、その作用機序には未だ不明な点が多く、レーザー治療をさらに開発、推進するためには、レーザーの生物学的効果の機序の解明を実証科学的に発展させる必要がある。

本研究では、細胞培養系を応用してレーザー照射による炎症メディエーター産生への影響を検討するために、自由電子レーザーによる種々のレーザー波長による生物学的効果の影響をとくに遺伝子発現プロファイルをモニターリングすることで解明することを目指す。

光照射による臨床的な生物学的効果やその再現性について心理的なプラセボ効果が大きいであろう、あるいは温度上昇効果による単なる血液循環の促進による効果であろうとする議論もされている。また、光照射治療は臨床での応用が試行錯誤的に実施され、効果のあった事実だけが誇張されている、あるいは副作用について十分検討されていないという指摘もされている。このような背景から光照射の生物学的効果の作用機序は未だ不明な点が多く、生物学的効果を実証科学的に解明していく必要がある。

口腔領域における難治疾患として顎関節症が話題になっている。本疾患の発症によって咀嚼機能が低下し、栄養摂取に障害を与えるだけでなく精神的ストレスのためにメンタルな意味でも大きな問題になっている。Interleukin (IL)-1 $\beta$ は変形性顎関節症患者の滑液中で上昇していることが報告され、疼痛との関連も示唆されていることから、顎関節症の発症および進展において重要な役割を担っているものと考えられている。当研究グループでは、ヒト顎関節滑膜細胞の培養系を



確立し、培養ヒト顎関節滑膜細胞（滑膜細胞）に及ぼす IL-1 $\beta$  の影響を検討してきた。すでに、滑膜細胞に IL-1 $\beta$  を作用させると、IL-6、IL-8 および Monocyte Chemoattractant Protein (MCP)-1 産生が上昇することを報告している。IL-6 は、リンパ球の活性化、滑膜細胞の増殖、血管新生、骨・軟骨破壊に関与するといわれている。また、IL-8、MCP-1 は代表的な chemokine で、主に IL-8 は好中球、MCP-1 は単球の遊走、活性化に関与している。近年、顎関節症患者の滑液でも IL-6、IL-8 量が上昇していることが報告されている。これらのサイトカインは生体の恒常性維持に必須であるものの、産生が過剰になると炎症の増大、組織破壊を引き起こすものと考えられる。本研究では、直剪偏光近赤外線治療器スーパーライザー照射の抗炎症作用の解明を目的に、ヒト滑膜細胞に IL-1 $\beta$  を作用させた後に照射し、IL-6、IL-8、および MCP-1 の産生を測定した。

## 実験方法

### 1. 細胞培養

骨芽細胞として、マウス新生仔の頭蓋骨から樹立され、骨結節形成能を有する MC3T3-E1<sup>5)</sup> を用いた。細胞は、10% 牛胎児血清、100 mg/ml ペニシリン G、50 mg/ml ゲンタマイシン硫酸を添加した  $\alpha$ -MEM 培地で、95% air- 5% CO<sub>2</sub>、37°C の条件化、CO<sub>2</sub> インキュベーターで培養した。培養ディッシュ(75 cm<sup>2</sup>)に培養液 10 ml の培養液を加えて培養を行った。

### 2. レーザー装置

低出力レーザー照射装置は、Ga-Al-As 半導体レーザー装置（モデル Panalase-1000、波長 830 nm、最大出力 500 mW；松下電器）を用いた。細胞表面から 5 cm の距離に照射部を設定し、500 mW で培養ディッシュ 75 cm<sup>2</sup> に対して 20 分間照射した。この照射条件で、エネルギー密度は 7.6 J/cm<sup>2</sup> になる。培養液の存在下および非存在化でレーザー照射を行って調べたところ、両条件でのエネルギー量に差は認められなかった。このことから培養液中の赤色物質による吸収は軽微と考えられ、照射時に培養液を取り除かず実験を行った。また、この照射条件で培養液の温度の変化に有意差は認められない。

### 3. cDNA ライブラリーの作成

本実験では、細胞増殖への影響も調べるために、MC3T3-E1 細胞をセミコンフルエントまで培養し、レーザー照射後、1,6,12,24 時間後に細胞から総 RNA を回収した。総 RNA を混合して、mRNA を精製し、cDNA ライブラリーを作成した。5 mg のポリ A-RNA をテンプレートにして、1.6 mg *NotI* サイトをもつ oligo dT をプライマー、メチル化デオキシヌクレオチドを用いて逆転写酵素 (Superscript II) 反応によって cDNA を合成した。合成試料から RNA を *Rnase H* を用いて取り除いた後、*BglII-SmaI* アダプターを付加してベクタープラスミドに一方向で挿入できるようにした。300bp 以下の短い DNA フラグメントをスピニングカラムで除き、ベクタープラスミド pAPneo に挿入し、T4 リガーゼでキメラプラスミドを作成した<sup>6)</sup> (図 1)。



図1 ハイブリ装置

#### 4. 差分化遺伝子クローニング

キメラプラスミドを宿主細胞 *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ F7IQ にエレクトロポレーション法で形質転換し、R408 ファージを感染させて一本鎖化して回収した。次いで、レーザー非照射 MC3T3-E1 から回収、精製した mRNA をビオチン標識し、一本鎖化キメラプラスミドライブラリーとハイブリダイズさせ、さらにストレプトアビジンを結合させた。共通する mRNA 結合キメラプラスミドをフェノール法で除去し、残ったキメラプラスミド、すなわちレーザー照射で mRNA レベルが上昇した遺伝子を含むキメラプラスミドを回収した。この操作を二度繰り返した。差分化キメラプラスミドに BcaBEST DNA ポリメラーゼを用いて二本鎖 DNA プラスミドにした後、*E. coli* MC1061A に形質転換して差分化遺伝子クローンライブラリーを作成した<sup>6)</sup> (図2)。

#### 5. 塩基配列の解読

単一コロニーの *E. coli* 遺伝子クローンをランダムに回収後、自動プラスミド精製装置(Kurabo, PI-100)でプラスミドを回収、精製した。各キメラプラスミドの挿入 DNA 断片の塩基配列の解読は、dideoxy chain termination 法<sup>7)</sup>で行った。塩基配列の解読は蛍光自動 DNA シーケンサー(LiCor, Epicenter Technolgy 社)、蛍光標識 DNA プライマー、Sequi therm Long-Read cycle sequencing kit (LiCor, Epicenter Technolgy 社) を用いて行った。



図2 スキャナー

## 6. データベース検索

National Center for Biotechnology Information (NCBI)の BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) を利用して、塩基配列のホモロジー検索 (Nucleotide BLAST; ; blastn) を行った。520bp の塩基配列のホモロジー検索の結果で既知遺伝子と一部の相同性が見られたものを Known gene クローン、アノテーションがない EST (Expression Sequence Tag) gene とのホモロジーが見られたものを EST クローン、30bp 以上相同性が見られないのを Unknown gene クローンとした。

## 7. 滑膜細胞の採取および培養

インフォームド・コンセントを行った左側顎関節突起骨折患者の下顎頭摘出術と顎関節形成術施行時に得られた顎関節滑膜をoutgrowth 法により滑膜細胞を得た。この細胞を 20% fetal calf serum (FCS)、penicillinG 100 µg/ml、kanamycin 100 µg/ml、fungizone 250 ng/ml を含む、Ham F12 培地にて、37°C、5% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub>、90% N<sub>2</sub> (サンヨーマルチガスインキュベーター MCO-175M) 条件下で初代培養を行った。また 10% FCS および抗生物質を含むHam F12 培地で継代培養を行った。培地は 3 日ごとに交換した。実験には、継代数8~10代の細胞を用いた。

## 8. 滑膜細胞の免疫染色法

滑膜細胞を 2 穴ラブレックチャンバースライド に  $5 \times 10^4$  cells/well にてまき、10% FCS 含有 Ham F12 培地で 24 時間培養後、2% FCS 含有 Ham F12 培地に交換し、さらに 24 時間培養した。その後、PBS (-) で 2 回洗浄後、4% PBS-パラホルムアルデヒド溶液にて 10 分間固定した。さらに PBS (-) で 2 回洗浄し乾燥後、使用まで -80 °Cにて保存した。免疫染色は、DAKO LSAB™

キットを用いて行った。一次抗体として細胞特性マーカーである以下のモノクローナルを用いた：(抗ヒト線維芽細胞マーカー抗体、抗ヒトビメンチン抗体、抗ヒトHLA class II抗体、抗ヒトマクロファージマーカー抗体、抗ヒト樹状細胞マーカー抗体)。最後にマイヤーのヘマトキシリンにて核染後、脱水、透徹、封入した。

## 9. 低出力レーザー照射

滑膜細胞を、24穴マルチプルプレートに  $3 \times 10^4$  cells/well にてまき、コンフルエント確認後、2% FCS および抗生物質を含む Ham F12 培地に交換し 24 時間培養した。次いで、1.0 U/ml IL-1 $\beta$  を作用させ、半導体レーザーには Ga-Al-As 半導体レーザー (Panaras 1000 ; 波長 830 nm、出力 500 mW, Matsushita, Inc, Tokyoud) を、近赤外線レーザーには直線偏光型近赤外線レーザー (Super Lizer HA-2200 LE2 ; 波長 600~1600 nm、出力 560mW, Tokyoud-Iken, Inc, Tokyoud) を、出力 100 % でエネルギー密度  $3.84 \text{ J/cm}^2$  となるよう連続照射した。

## 10. ELISA 法による IL-6、IL-8、および MCP-1 の測定

レーザー照射を行ってから 3 時間後に培養上清を採取し、使用まで  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  下にて保存した。IL-6、IL-8、および MCP-1 の測定は、ELISA キットを用いた。IL-6、IL-8、および MCP-1 の産生量については、滑膜細胞の数  $10^5$  cells あたりの培養上清中の量に換算して表示した。

## 研究経過

### (1) 差分化遺伝子クローニング

差分化遺伝子ライブラリーからプラスミド DNA を抽出、精製し制限酵素で切断してアガロースゲル電気泳動を行い、挿入断片を調べた。300bp 以上の挿入断片をもち、かつ制限酵素消化パターンが異なる 88 遺伝子クローンを選び、プラスミド DNA を精製し、それぞれの挿入 DNA 断片の塩基配列について 520bp 解読した。得られた塩基配列情報を NCBI の BLAST プログラムで塩基配列のホモロジー検索を行った。88 遺伝子クローンについてのホモロジー検索の結果を表 1 にまとめた。22 クロウンが Known 遺伝子、38 クロウンが EST クロウン、30 クロウンが Unknown 遺伝子であった。また、表 2 に 22 クロウンの既知遺伝子についてのアノテーション情報を示した。

### (2) 滑膜細胞のキモカイン産生への影響

#### ① 滑膜細胞の各種細胞マーカーによる免疫染色

線維芽細胞のマーカーである線維芽細胞マーカーとビメンチンは染色されたが、マクロファージマーカー、HLA class II および樹状細胞マーカーは染色されなかった。

#### ② 光照射による IL-6 産生への影響

滑膜細胞に 1.0 U/ml IL-1 $\beta$  を作用させた直後にレーザーを照射し、その 3 時間後に培養上清中の IL-6 量を測定した。半導体レーザー群、Super Lizer 群ともにコントロール群と比較して減少しており、半導体レーザー群では有意な差を認めた。(n = 3, mean  $\pm$  S.D., \*p < 0.005)

### ③光照射によるIL-8、MCP-1 産生への影響

滑膜細胞に 1.0 U/ml IL-1 $\beta$  を作用させた直後にレーザーを照射し、その3時間後に培養上清中の IL-8 量を測定した。半導体レーザー群、Super Lizer群ともにコントロール群と比較して有意に減少していた。(n = 3, mean  $\pm$  S.D., \* $p < 0.05$ )、MCP-1 産生量については、半導体レーザー群では、コントロール群と比較して有意に減少していたが (n = 3, mean  $\pm$  S.D., \* $p < 0.05$ )、Super Lizer群はコントロール群と比較しても、ほとんど変わらなかった。

IL-8、MCP-1 に関しては 900-1000nm 波長領域が他の波長域にくらべて若干抑制度が高い傾向が認められた。

骨芽細胞への 830nm 波長のレーザー照射のマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルのモニター結果では、コラーゲン遺伝子が照射により発現上昇し、アポトーシスに關与するカスパーゼ 8 遺伝子が照射により発現低下した。その他、種々の遺伝子発現に影響を果たしていることが判明した。

# レーザーの波長の違いが歯の硬組織に及ぼす影響

---

## 代表研究者

日本大学 松戸歯学部 教授 池見 宅司

## 研究従事者

日本大学 松戸歯学部 教授 池見 宅司

日本大学 松戸歯学部 講師 平山 聡司

日本大学 松戸歯学部 助手 山本 憲廣

## 研究目的

今日、歯科保存修復学の分野では硬組織を対象としたレーザー研究が進められている。歯の硬組織に応用されるレーザーは大別すると破壊的方法と非破壊的方法が考えられる。破壊的方法は歯質削除を目的としており、波長  $1.06\mu\text{m}$  の Nd-YAG や波長  $2.94\mu\text{m}$  の Er-YAG が主に使用されている。現在の齲蝕治療の考え方としてミニマルインターベンションが台頭してきており、罹患歯質だけの選択的な除去を行い、健康歯質をできるだけ削除しない方法が求められている。歯質の削除能の面から考えると、現状ではエアタービンやエンジンによる切削に勝るものは見あたらないが、レーザーは無痛的な歯質削除や罹患歯質選択的除去の可能性を有しており、局所的に熱エネルギーを与えることが出来るという歯科医療の将来にとって非常に魅力的な長所を持っている。

また、非破壊的方法としては齲蝕予防の観点から、レーザーによる歯質強化に関する研究もなされているが、炭酸ガスレーザーとフッ化物との併用による報告が多く、他の発想が展開されていない。さらに、Ar による生活歯の漂白やコンポジットレジンの重合硬化への応用が研究されているが、これらについてもレーザーの応用で特別改善されたとの報告は得られていない。そこで、基礎的にエナメル質や象牙質あるいは修復材に与える影響について、それらの組成の吸収波長を基にしてアブレーションとアニーリングの両面から研究を行い、歯科医療への効果的なレーザーの使用方法を波長別に研究することを目的とする。

## 研究経過

須原はエルビウム YAG レーザー照射後の象牙質に対するコンポジットレジンの接着強さを向上させるために、平成 13 年度に報告した山本らの試作プライマーを使用し、レーザーの照射方法を変化させて実験を行った。その結果、最初に高めの照射エネルギーで照射後、弱い照射エネルギーで追照射を象牙質に行うことによってさらに接着強さは向上することが判明し、論文報告を行った。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

歯質削除用に主に使用されている Er-YAG レーザーの  $2.94\mu\text{m}$  と Nd-YAG レーザーの  $1.06\mu\text{m}$  の波長を中心として、 $30\sim 300\text{mJ}$  の照射エネルギーで照射した際のエナメル質、象牙質および各種修復材料に及ぼす影響を調べる。削除能と表面構造の変化は表面形状測定器と SEM にて測定、観察する。さらに、半導体レーザーの応用を考慮して  $820\text{nm}$  の波長を主とし、波長を変化させて、硬組織や修復材料に及ぼす影響を調べる。

罹患歯質染色材はその染色剤の赤外吸収波長を参考として選択し、罹患象牙質のアブレーションを目的とした実験を行い、フッ化物の種類についてはレーザー照射でアニーリングされる材料を検討し、実験を行う。その際、微小部 X 線回折装置にて表面の分析を行う。

# 金属タンパク質の NO 捕捉能と構造に関する研究

---

## 研究代表者

日本大学 生物資源科学部 教授 奥 忠武

## 研究従事者

日本大学 生物資源科学部 教授 奥 忠武

## 研究目的

窒素酸化物 ( $\text{NO}_x$ ) は、大気、酸性雨などの環境汚染の元凶物質であり、その中心は、亜硝酸 ( $\text{NO}_2^-$ ) や一酸化窒素 (NO) である。その低減には、現在の工業的技術のみでは不可能となってきた。そこで我々は、これら  $\text{NO}_x$  の還元、除去を行う分子の検索を行った結果、本来呼吸鎖電子伝達体として機能しているシトクロム *c* が亜硝酸還元酵素と同様に、亜硝酸から一酸化窒素を経由し、迅速にアンモニアにまで変換することを見いだした。また、シトクロム *c* に熱などのタンパク質変性処理を行うと、その活性が更に向上することも明らかにしてきた。これは、一般のタンパク質、酵素が熱などの変性処理を施すと失活するという事実から考えると、従来の化学の常識とは逆の大変ユニークな結果 (化学と生物 **34** (12)、784–785 (1996)) であり、各種生物のシトクロム類の NO 捕捉能や優れた変性法について検討する必要がある。これまでに  $\gamma$  線や電子線を照射したシトクロム *c* が優れた亜硝酸還元活性を示すことを報告してきた。この活性向上は、シトクロム *c* 内の第 6 配位子メチオニンとヘム鉄との結合の解離に起因していた。

そこで本研究では、遺伝子工学的に第 6 配位子メチオニンを人工改変した変異体を作製する目的として、先ず前段階の実験として真核生物である酵母および原核生物である大腸菌を用いた発現系の構築を行う。高亜硝酸還元を示し、X 線結晶構造解析を行った紅藻スサビノリ *Porphyra yezoensis* (*P. yezoensis*) 由来シトクロム *c*<sub>6</sub> を試料とした。これらの検討は、今後、金属タンパク質の X 線結晶構造解析を基に高亜硝酸還元、高 NO 捕捉を示す人工分子の作出をし、応用に役立つようとするものである。



## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

### [酵母での発現]

シトクロム  $c_6$  遺伝子の成熟化領域 (85 残基) を酵母分泌発現ベクターに連結させ、*Phichia pastori* に形質転換を行った。サザンブロットにより目的遺伝子が酵母ゲノム DNA 中に組み込まれていることを確認したが、目的のシトクロム  $c_6$  の発現は見られなかった。

### [大腸菌での発現]

シトクロム  $c_6$  遺伝子のシグナルペプチドを含む全翻訳領域 (110 残基) をベクターに連結させ、大腸菌 DH5 $\alpha$  に形質転換し、発現を行った。その結果、微量 (0.3 mg/L) ではあるがヘム核をもった目的タンパク質が得られた。しかしながら、様々な物理化学的性質や亜硝酸還元能、NO 捕捉能を検討するには十分な収量ではなかったため、次に大腸菌での発現系の構築を行った。シグナルペプチド、発現プロモーター、宿主大腸菌、培養条件、シトクロム成熟化酵素遺伝子群の同時発現について検討した結果、大腸菌 DH5 $\alpha$  を用いた系の約 76 倍 (2.3mg/L) の収率で組換え体シトクロム  $c_6$  を得た。組換え体シトクロム  $c_6$  の物理化学的性質 (分子量、等電点、酸化還元電位)、分光学的解析 (CD スペクトル、ラマン分光スペクトル) および亜硝酸還元能は、野生型シトクロム  $c_6$  と同様であり、大腸菌内で正確に発現していることを確認した。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

紅藻スサビノリ *P. yezoensis* 由来シトクロム  $c_6$  の大腸菌で発現系を構築してきたことから、更に、高亜硝酸還元及び高 NO 捕捉能を示す人工分子の創成を目的として、以下の検討を行う。①遺伝子工学的に第 6 配位子メチオニンをアラニン、ヒスチジン、システインに人工改変した変異体を作製し、亜硝酸還元活性の測定を行う。②これらの変異体が結晶化できれば、X 線結晶構造解析を試みたい。これより決定された立体構造から変異シトクロム  $c_6$  の亜硝酸還元活性における構造生物学的解析を行う。上記の紅藻スサビノリ *P. yezoensis* 由来シトクロム  $c_6$  の X 線結晶構造や①、②で解析された立体構造より、高活性を示す最適なタンパク質構造のデザインし、これらデータを基により高機能をもつ人工分子の創成を行う。

現在までに高亜硝酸還元、高 NO 捕捉のための人工分子を創成したという研究報告は見当たらない。そのため構造生物学的解析を基に高亜硝酸還元、高 NO 捕捉能をもつ人工分子 (人工タンパク質) の創成を行うことが出来れば、地球環境の改善の一助になるのみならず、NO の生理学的解析が大きに可能となり、ヘムタンパク質の機能性を利用した新技術となりうる。

## 実験備品等

### 結晶化関係

結晶化用プレート × 5

マイクロピペット × 2

### 微生物培地関係

IPTG 10 g × 5

セレクトペプトン 2.5 kg × 4

セレクト酵母エキス粉末 2.5 kg × 4

セレクト寒天粉末 2.5 kg × 2

### 遺伝子実験関係

PCR 試薬 (Ex Taq) 3000 U × 2

DNA sequence 試薬 × 4

TA クローニング試薬 × 5

プラスミド調製試薬 × 5

### 亜硝酸還元反応関係

NO 発生試薬 50 mg × 5

マイクロシリンジ 10  $\mu$ l × 3

マイクロシリンジ 50  $\mu$ l × 3

マイクロシリンジ 2.5 ml × 3

スクリーキャップ付セル × 6

# 波長可変ピコ秒レーザー光源を用いた 2 光子あるいは 3 光子励起法による Light Harvesting 分子の新たな電子状態の探索

---

## 研究代表者

日本大学 工学部 物質化学工学科 奥山 克彦

## 研究従事者

日本大学 工学部 物質化学工学科 奥山 克彦

日本大学 工学部 物質化学工学科 沼田 靖

日本大学 工学研究科 工業化学専攻 吉田 功児

日本大学 工学研究科 工業化学専攻 本白 正周

日本大学 工学研究科 工業化学専攻 成毛 祐一

## 研究目的

近年、太陽光エネルギーを効率良く捕集し（光アンテナ）、蓄積し利用しようとする試み（Light Harvest）が盛んになされている。それと同時に光エネルギーを化学エネルギーに変換する分子論的メカニズムの解明も精力的になされてきた。従来まではポルフィリン誘導体を核とする分子組織が光励起され次いで分子末端へ励起子移動が起こるのであると考えられてきた。この機構はおおむね誤りはないのだが、励起子移動を効率良く起こさせるためには分子個々あるいは組織全体のすべての電子状態の情報が必要不可欠なものとなる。ここでいう'電子状態の情報'とは可視光領域に存在する電子状態すべての正確なエネルギー位置と励起子移動の可否を決めるそれらの対称性に関する情報のことである。現在までこのような情報は、1 光子励起で観測された電子状態の情報を基にした大型コンピュータによる計算が主流であった。しかしこの方法では'情報の質'に関し疑問が残ると考えられる。

本研究では、このような分子の領域（ $0.4\ \mu\text{m}\sim 0.8\ \mu\text{m}$ ）に存在する電子状態を波長可変ピコ秒レーザー光源による 2 光子（ $0.8\ \mu\text{m}\sim 1.6\ \mu\text{m}$ ）あるいは 3 光子（ $1.2\ \mu\text{m}\sim 2.4\ \mu\text{m}$ ）励起法で探索し、新たな電子状態を見つけ出すことを第一の目的にしている。ピコ秒レーザー光源は光パルス

当たりの光子密度が高く多光子遷移に極めて有利である。さらに、円偏光と直線偏光による遷移強度比を求めれば電子状態の対称性も直接求めることができると考えられる。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

研究手段の主力は超音速分子線による質量選別レーザー分子分光法になる。超音速分子線発生装置およびそれを用いたし光イオン化質量分析装置はすでに完成し、性能試験も終わっている。さらに一部の Light Harvesting 分子（テトラフェニルポリフィリン）については、ナノ秒レーザーではあるが光パラメトニック発振により発生した赤外レーザー光（ $0.8\ \mu\text{m}\sim 1.2\ \mu\text{m}$ ）を用いて、新たな電子状態（g 状態）の探索を始めている。しかし、光源の光子密度が低いこと、波長可変の範囲に限界があることと理由で、兆候はつかんでいないものの決定的な情報は得られていない。平成 13 年度まではここまで研究し、平成 14 年度以降の波長可変の自由電子レーザーの実用を待っている段階である。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

初めにせねばならないことは“光源のチェック”である。光強度、偏光性、パルス時間幅、波長の連続掃引性、高次光の割合、光のエネルギー分解能、この光による光学系の損傷閾値の測定などである。この作業に 3、4 日はかかるであろう。次のチェックは実際に分子線発生装置を組み込んで、既知分子を対象に 1 光子励起による蛍光励起スペクトルおよび質量選別（1+1）イオン化スペクトルの測定を予定している。本実験となる 2 光子励起スペクトルは 1 光子遷移と比べ 100 分の 1 くらい信号強度が弱い。あらかじめ 1 光子励起による信号を捕まえておくことで本実験の難しさ（簡単さ？）の程度が把握できるものと考えられる。この段階にも 4 日間必要である。

これらの段階を経て本実験に入る。対象分子（テトラ tert-ブチルポリフィリン、アザポリフィリン、直鎖共役系分子として  $\beta$ -カロテン、ビタミン A など）はすでに入手済みである。本実験には平成 14 年度は 2、3 週間のマシンタイムを考えている。

## 実験備品等

真空装置維持費

検出器維持交換費

試料購入費または合成依頼費

装置運搬費

旅費（平成 14 年度はマシンタイムを 5 回予定しており、1 回のマシンタイムは 3 名で行う予定である。）

# 生体硬組織の結晶構造解析

---

## 研究代表者

日本大学 松戸歯学部 助教授 寒河江 登志朗

## 研究従事者

日本大学 松戸歯学部 助教授 寒河江 登志朗

日本大学 松戸歯学部 専任講師 早川 徹

日本大学 松戸歯学部 専任講師 三島 弘幸

日本大学 松戸歯学部 講師（専任扱い） 鈴木 久仁博

日本大学 松戸歯学部 教授 安孫子 宜光

松戸歯学部 助教授 秋元 芳明

米国 ニューヨーク大学歯学部 教授 ラクエル・Z・レゲロス(R.Z. LeGeros)

フランス ナンテ大学歯学部 教授 ギー・ダクルシ(G. Daculsi)

## 研究目的

生体が関与して形成された物質にはヒトを含む脊椎動物の生命活動の維持にとって重要な骨や歯などの硬組織がある。これらの硬組織は無機質と有機質の複合体として特殊な構造と機能を有している。最近盛んになってきている生体代替物質の研究開発においては、実際の生体の硬組織に学ばなければならないことが多い。これまで実施されてきている多くの生体大材料開発においては骨や歯の無機質成分が単純にハイドロキシアパタイトと考えられてきた。しかし、実際の骨や歯の成分は「生体アパタイト」と呼ばれる特別なアパタイトである。しかも、この生体アパタイトが生体内で部位的变化、個体差、種差など多くの変動要因を有していることは重要であり、基礎的研究から臨床的な応用へと発展展開する上において第一に着目しなければならない点である。この点はインプラントなどの材料開発においても同様である。また、生体は病的な石灰化物も時として形成してしまう。この病的な石灰化物は体の各所にそれぞれの環境に応じた物質を形成する。病的な石灰化物の形成機構が明らかとなれば、その治療・処置・予防法が確立できる。しかし、病的石灰化物の分析研究は進んでいない。そこで、本研究ではこのような目的のために新たなパラメトリックX線源と微小部X線回折装置を導入して、これまでになく微細なしかも時系列的な分析研究を行おうとするものである。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など（実験装置等を含めて）

パラメトリック X 線源の本格利用がまだ可能な状況にないため、既設の予備実験機（IP 型微小部 X 線回折装置、回転対陰極型粉末・薄膜 X 線回折装置）を用いて装置操作および解析技術の習得を行った。予備実験装置は、パラメトリック X 線源が利用可能になったときにおいても、パラメトリック X 線源を用いた本格実験の前に、試料の状態分析や調整を行うためのものである。予備実験装置が装備されていることにより、本格実験装置の有効活用を図ることが出来る。

以下に本研究施設の微小部 X 線回折装置、粉末・薄膜 X 線回折装置を用いた実験研究例を示す。

### A) 微小部 X 線回折装置を用いたエナメル質カリエス（虫歯）の研究（鈴木先生と共同研究）：

エナメル質は人体の中でもっとも硬い組織で咀嚼器官として働く。しかしカリエス、いわゆるむし歯になりやすい組織でもある。むし歯の原因菌の研究は進んでいる一方、基質（エナメル質）そのものの研究と、むし歯の状態の基質の研究は相対的に遅れているといえる。むし歯に限らずエナメル質の再石灰化現象の基礎的結晶学的研究例は驚くほど少ない。今回、本研究施設の微小部 X 線回折装置によって 100 ミクロン径の X 線ビームを照射して、むし歯の病巣本体から健全部エナメル質までを連続的にスポット分析した。その結果、むし歯病巣本体の結晶が従来言われてきたような崩壊した状態にあるのではなく、かえって再石灰化した状態にあると思われることが示唆された（未発表）（図 1）。この結果は、IP 型微小部 X 線回折装置の性能が優秀であり、ビーム径が小さいにもかかわらず測定時間が短縮されて、かつ X 線回折像が鮮明なために、従来より高精度で分析可能となったため初めて得ることが出来たのである。

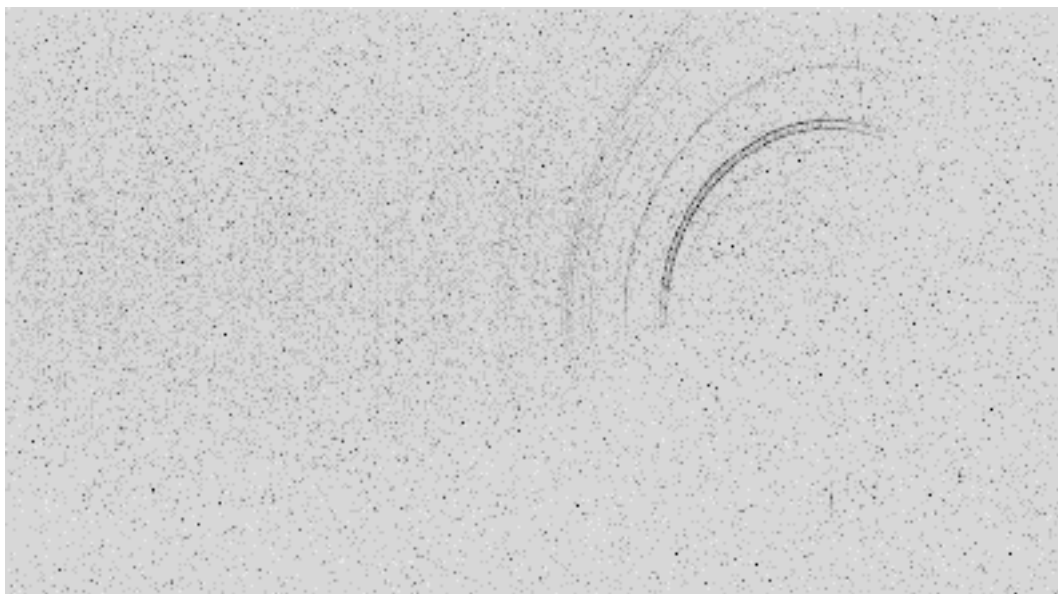


図1 エナメル質カリエスの微小部X線回折パターン



## B) 微小部X線回折装置に自動XYステージを用いた歯のエナメル質カリエス(むし歯)結晶の研究:

上記実験研究 A) においてはX線ビームを試料上で走査してむし歯病巣から正常エナメル質で結晶の変化を追いかけることが望ましい。手動 XY 試料ステージでもこれは可能であるが、本研究施設では自動 XY ステージを微小部X線回折装置に装着し、これで任意の範囲を連続自動測定が可能となった。この装置による結果の例を図2に示す。

ここでは、ビーム照射位置が移動することによる“結晶性”と“結晶の配向特性”の急激な変化が記録されている。

このように自動 XY ステージを用いることによって広範囲のデータ収集が可能となり、今後準マイクロレベルでの X 線結晶学的検索に大いに貢献するものと期待できる。

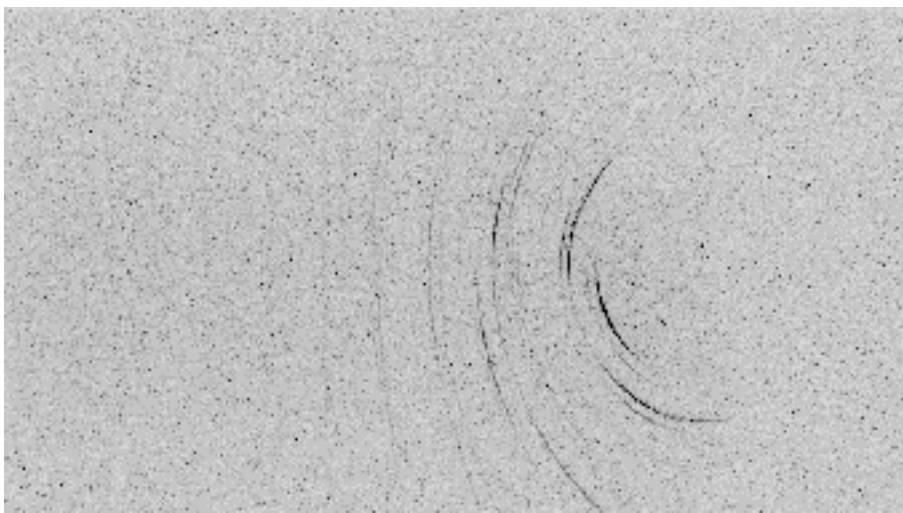


図 2a 歯のエナメル質カリエスの微小部X線回折パターン

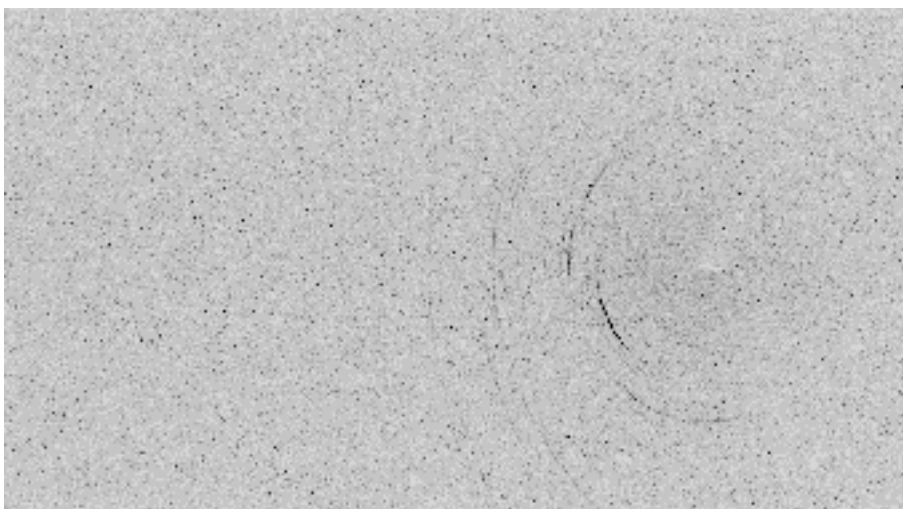


図 2b 歯のエナメル質の微小部X線回折パターン(図 2a から 100 $\mu$ m 離れたところ)

**C) 微小部 X 線回折装置を用いた歯の象牙質における結晶の配向性の比較(三島先生と共同研究):**

象牙質はコラーゲンと象牙質アパタイト結晶が複合体を成している。しかし、その組織構造・結晶組織は一様ではなく、部位差・歯種差・動物差などが見られることが我々のグループによって既に合評されている。今回、その事実の確認と、さらに動物の種類を広げて比較解剖学的に検討を加えることにした。まだ、研究の途中であるが、予想されたように、象牙質結晶に配向性が認められるものと無配向のものとの存在することが確かめられた(図 3) (未発表)。これらと同様の結果は従来型の微小部 X 線回折装置で収集可能であったが、今回、本研究施設の IP 型微小部 X 線回折装置を用いることにより迅速な測定が可能となり、比較検討に必要な測定点数を増加させることが可能となった。

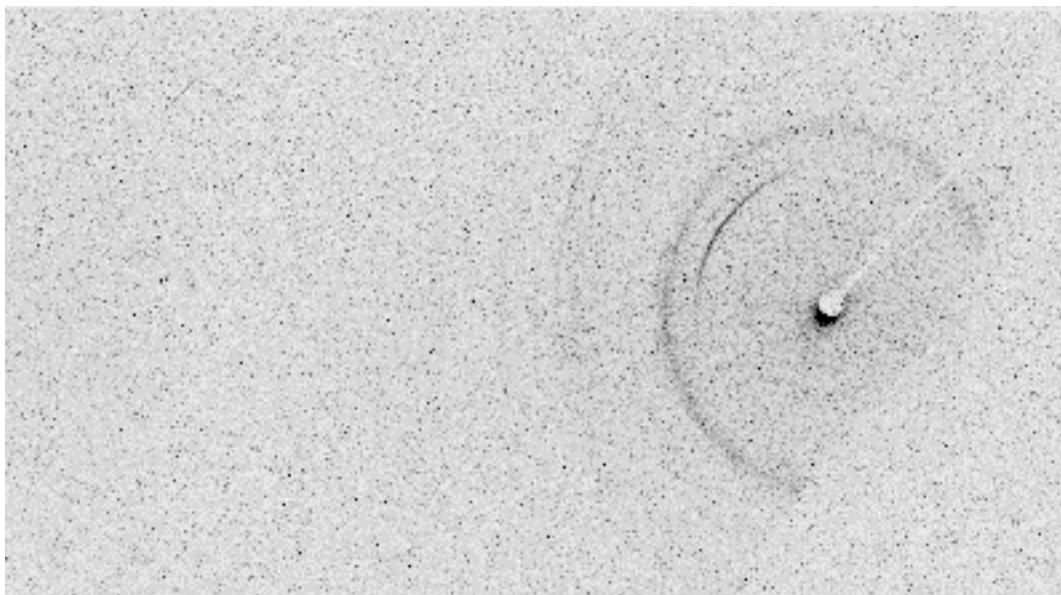


図 3 ラット象牙質の微小部 X 線回折パターン

**D) 粉末 X 線回折装置を用いた合成アパタイト材料の分析(レゲロス先生と共同研究):**

合成されたアパタイトは合成条件により結晶学的に有意な差を示す。今回湿式合成したいくつかのアパタイトを粉末 X 線回折法で研究した。その結果、予想通りにアパタイトの X 線回折ピーク位置およびピークプロファイルに違いを認めることが出来た(図 4) (未発表)。このデータを X 線回折データ解析ソフト JADE によって詳細に解析する予定である。

**E) 粉末 X 線回折装置を用いた骨髄由来細胞による石灰化物の微量分析(安孫子先生と共同研究):**

生体において細胞がどのように正常な、あるいは病的な、石灰化物(Ca を含む沈着物)を形成するかについては未だに未解明な部分が多い。正常な状態で石灰化能を有する骨髄由来細胞で石灰化様式を探る試みは広く行われている。様々な条件下において骨髄由来細胞を培養すると、形成された石灰化物の様相が異なっている。これを粉末 X 線回折法で調べたところ、従来幼弱な石灰化物が形成されたと考えられていた状態は、実際にはほとんど結晶性物質を含まないものであることが明らかになってきた(図 5) (未発表)。さらに試料数を増やして検証を進める予定である。

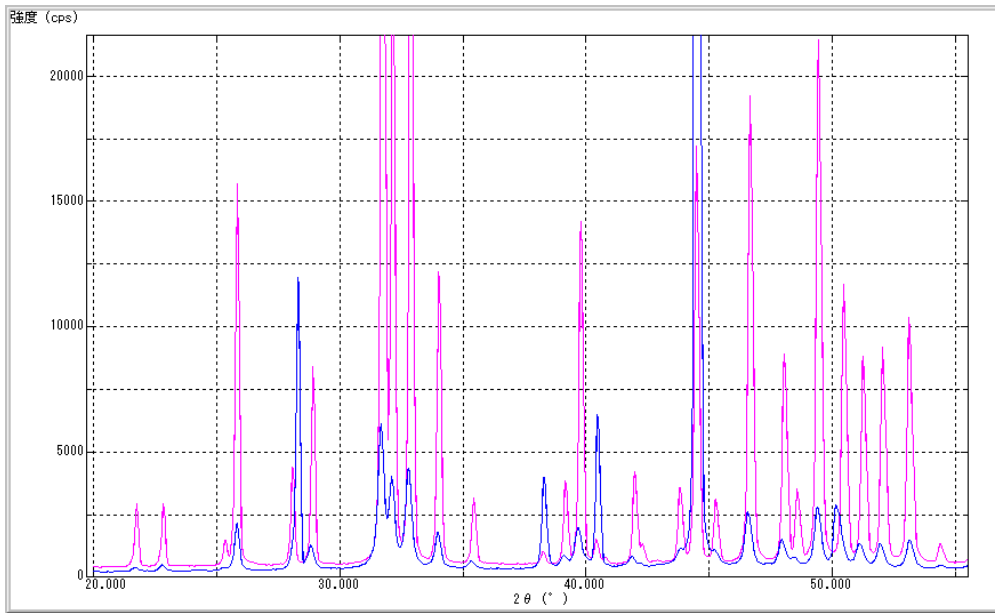


図4 アパタイトの X線回折パターン

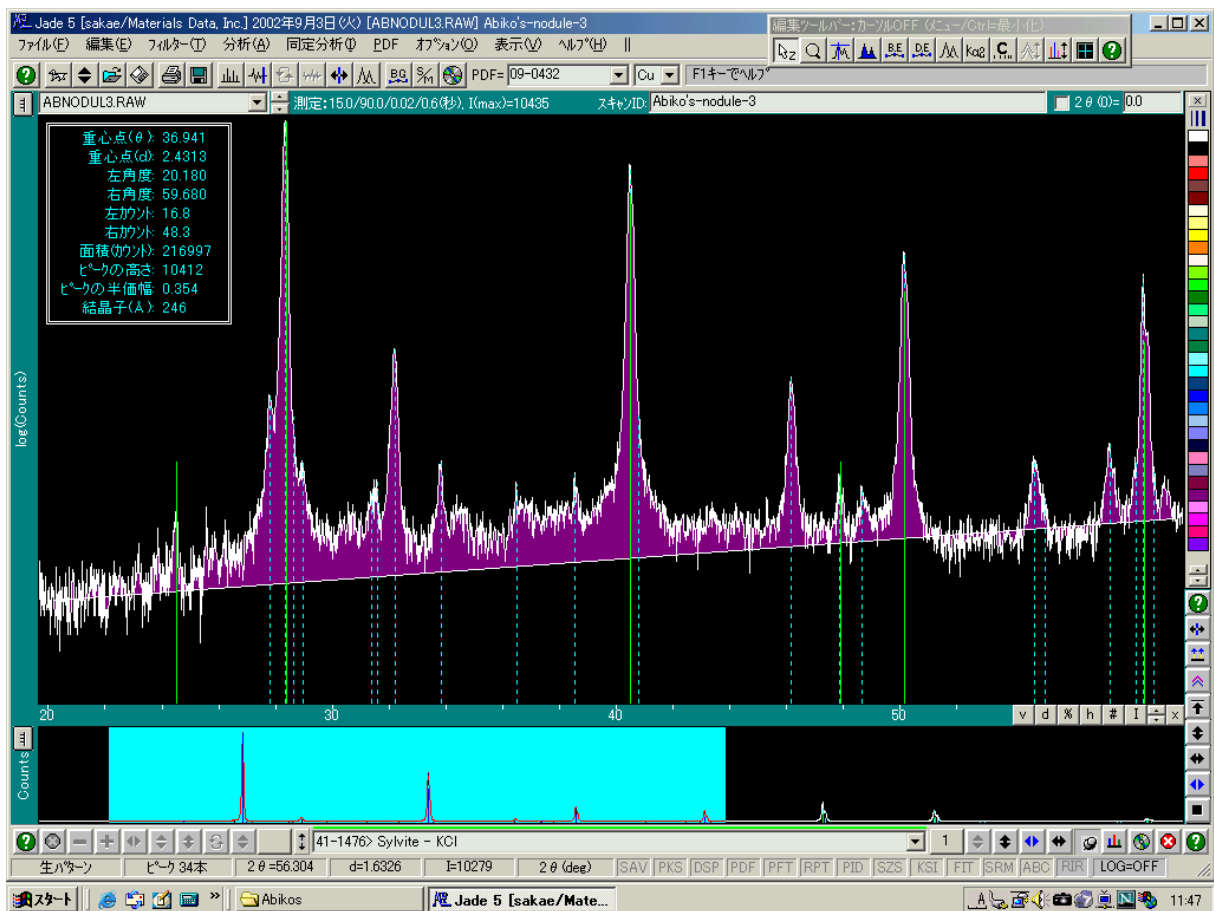


図5 細胞による石灰化物の X線回折パターン

**F) 薄膜 X 線回折装置を用いた Ti インプラント表面（界面）の研究（早川徹先生・レゲロス先生・ダクルシ先生と共同研究）：**

生体代替材料として Ti インプラントは実際の治療に使われている。しかし現状では代替材料として完全ではなくいくつかの改良点が指摘されている。今回、Ti の表面を加工したものを何種類か用意して、それらの材料学的比較を試みた。特に Ti 表面の状態を分析するために、薄膜測定法を利用することにした。現在までに得られた結果を図 6 に示した。この解析は現在行っている最中である。

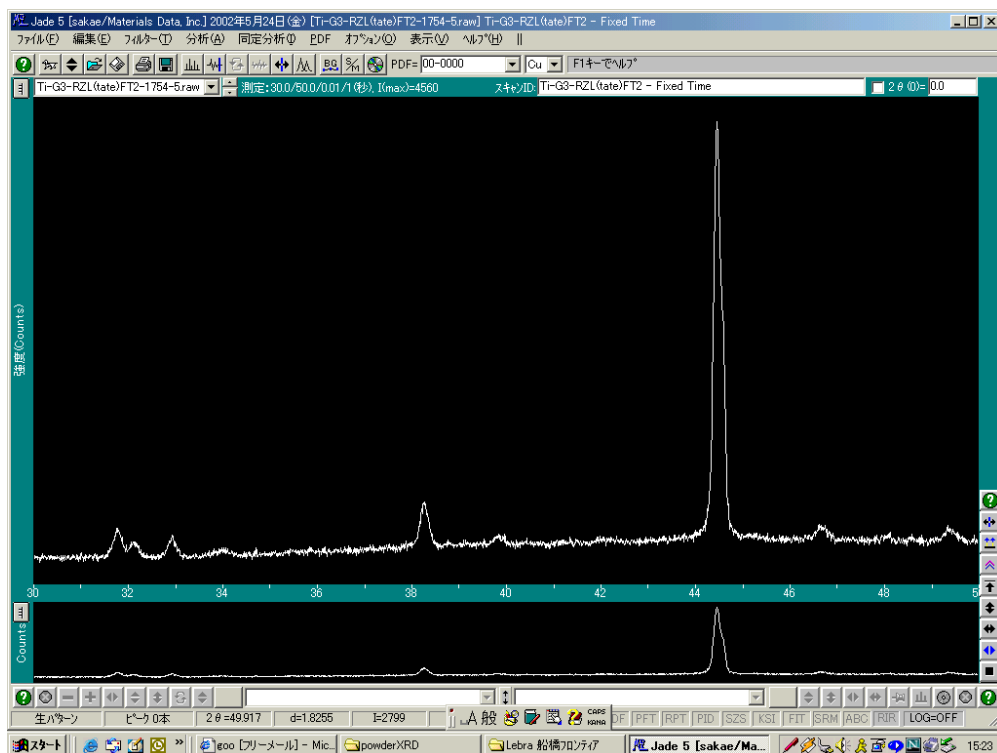


図 6 Ti インプラントの薄膜 X 線回折測定

**G) 粉末 X 線装置の特殊な測定法を利用した唾石の分析（秋元先生と共同研究）：**

粉末 X 線回折装置は角度分解能において微小部 X 線回折装置を上回っており、結晶学的性質を詳細に追及できる。さらに、当該粉末 X 線回折装置は測定系が全自動に設定可能であり、スリット系も角度依存型に設定が可能である。この性能を利用して、試料への X 線照射幅を 2mm に制限した、「制限照射測定法」とでも呼ぶ方法を実際の病的石灰化物である唾石に応用した。この唾石試料は微小部 X 線回折装置により組成的にはアパタイトであることが示され、部分的な結晶の方向性の偏りが存在することが示された。「制限照射測定法」によってこの唾石の結晶は、部分的な結晶性（ピークブロードニング）に差が認められた（図 7）。このような結果は従来報告されたことがなく、微小領域分析の新しい方法として今後発展していく可能性がある（未発表）。

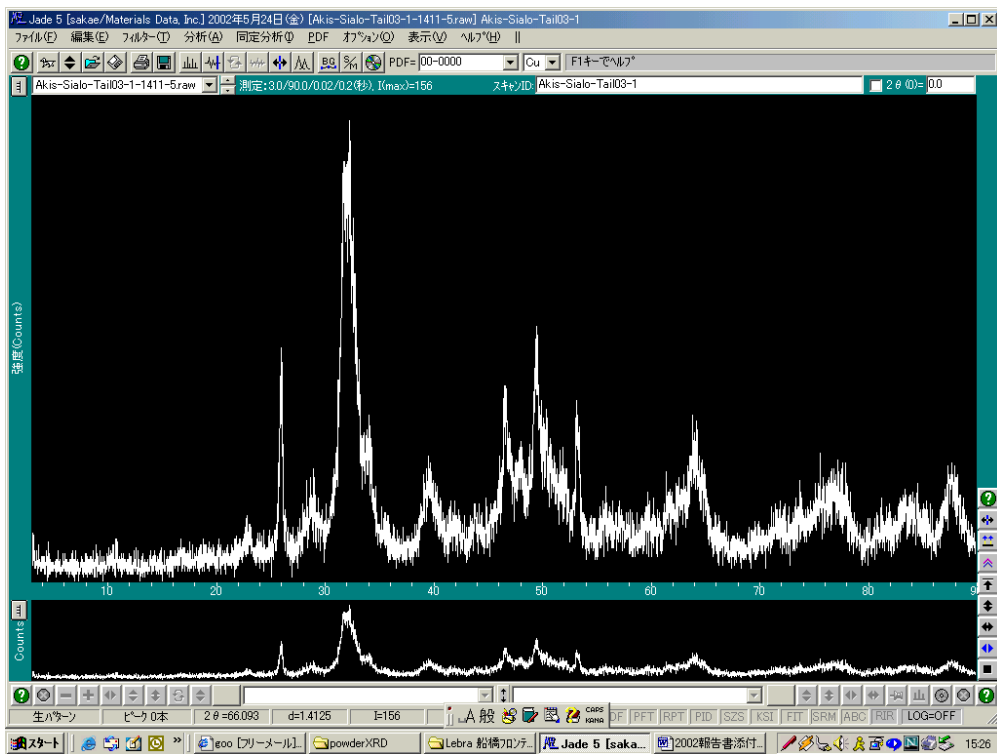


図 7a ヒトの唾石の「制限照射測定法」による X 線回折パターン

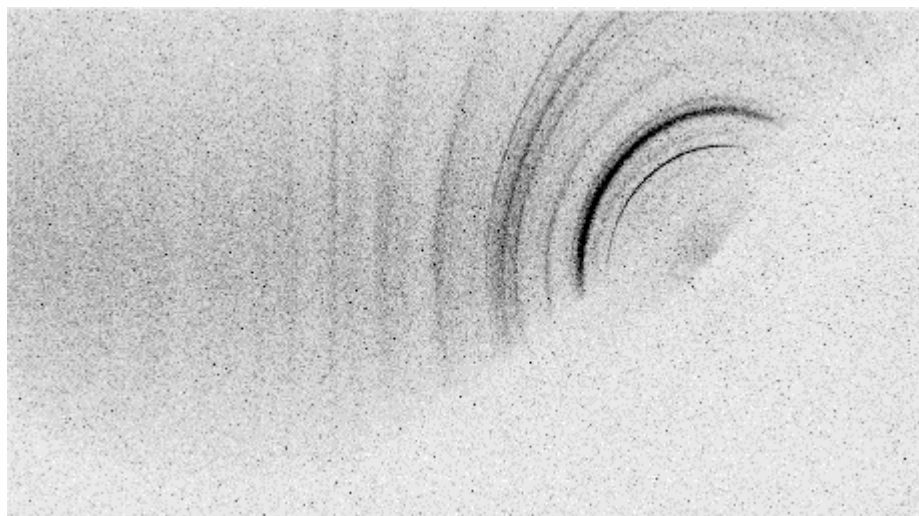


図 7b ヒトの唾石の微小部 X 線回折パターン

## 実験計画（平成 14 年度以降）

使用実験室名、マシンタイム、レーザー波長、光強度等を含む

微小部 X 線回折装置（本実験機）、平均週 1 日（連続または断続どちらでも可）、13KeV-

粉末・薄膜 X 線回折装置（予備実験機）、週 2-3 日、CuKa、max18kW

微小部 X 線回折装置（予備実験機）、週 2-3 日、CuKa、max1.5kW

これまで行ってきた予備的実験から、本施設の X 線回折装置で数多くの分析法が可能であることが確かめられた。今後は、これらの実験を継続するとともに、さらに多数の生体試料について実験を行い、本格実験を通じてより詳細な分析を行う予定である。

## 研究プロジェクトによる業績

### A：論文発表

1、

Bone Formation Induced by Several Carbonate- and Fluoride-Containing Apatite Implanted in Dog Mandible

T Sakae, A Ookubo, RZ LeGeros, R Shimogoryou, Y Sato, S Lin, H Yamamoto, Y Kozawa

Bioceramics 15, Sydney (accepted, in print)

2、

Calcium phosphate deposition on dentin bonding agent in electrolyte solution

T Hayakawa, K Nemoto, T Sakae, M Yoshinari

Proceedings of the International Conference on Dentin/Pulp Complex 2001, 140-142, 2001

3、

Genotyping of heterogeneous osteopetroic mice using microsatellite makers

Y Asada, Y Sato, T Shimizu, T Sakae, H Yamamoto, T Maeda

Jpn J oral Biol, 44, 1-6, 2002

4、

ヒトのエナメル質比重分画によるアパタイト結晶中の炭酸イオン分配比率と含有水比率の推定  
野崎泰夫、寒河江登志朗

日大口腔科学、27, 73-79, 2001

5、

動脈硬化症にみられた興味ある結晶構造物に関する一知見

松村恵美子、宇都宮忠彦、寒河江登志朗、RZ LeGeros、山本浩嗣

日大口腔科学、27, 80-84, 2001



## **B : 学会発表 (2002 年分)**

1、

象牙質アパタイト結晶の配向性について

三島弘幸・寒河江登志朗・小澤幸重 (日本大・松戸歯学部)

日本大学松戸歯学部学術フロンティア推進事業(平成10年及び平成13年)合同研究集会(2002/3/8)

2、

象牙質アパタイト結晶の配向性と組織構造

三島弘幸・寒河江登志朗・小澤幸重 (日本大・松戸歯学部)

第20回化石研究会総会・学術大会 (2002/7/6-7)

3、

Orientation of apatite crystal in dentin from human and some animal teeth

H. Mishima, T. Sakae, Y. Kozawa

odontology2002 (2002/9/15-19 予定)

4、

エナメル質カリエスの微小領域X線回折

寒河江登志朗、兒野喜穂、永井教之

第11回硬組織生物学会(2002/9/14 予定)

5、

動脈硬化に見られた複屈折性結晶

松村恵美子、寒河江登志朗、岡田裕之、宇都宮忠彦、山本浩嗣、RZ LeGeros

第11回硬組織生物学会(2002/9/14 予定)

6、

病理的な石灰化物—もうひとつの生体鈣物—

寒河江登志朗

第50回日本鈣物学会(2002/10/3 予定)

7、

Bone Formation Induced by Several Carbonate- and Fluoride-Containing Apatite Implanted in Dog Mandible

T Sakae, A Ookubo, RZ LeGeros, R Shimogoryou, Y Sato, S Lin, H Yamamoto, Y Kozawa

Bioceramics 15, Sydney (2002/12/3-7 予定)

# 爬虫類アルダブラゾウガメのヘモグロビン D (Hb D) の結晶構造の解析

---

## 研究代表者

日本大学 医学部 講師 宋倉 文夫

## 研究従事者

日本大学 電子線利用研究施設 研究支援 桑田 隆生

日本大学 医学部 講師 宋倉 文夫

## 研究目的

アルダブラゾウガメから2種類のヘモグロビン (Hb A と Hb D) を精製し、それぞれの X 線回折像を収集し、分子置換法で立体構造を構築する。平成 14 年度は Hb D の立体構造を構築する。

## 研究経過 (平成 13 年度) 実験準備の状況など

平成 13 年度は、電子線利用研究施設高分子構造解析グループ実験室 (仮称) の立ち上げを行った。

主な機器は2台の X 線回折装置と解析用プログラムソフトを搭載したコンピュータ類と結晶作成支援設備及び結晶作成支援機器類である。その結果、当該施設で生体高分子の結晶作成から構造解析まで一連の実験が可能になった。

なお、納入された高分子構造解析装置一式の検証は、平成 14 年 5 月 17 日に標準タンパク質リゾチームを用いて、結晶の作成から X 線回折像の取得、収集した回折像からリゾチームの立体構造の精密化とプリントアウトまで実施し、これらの機器を用いることにより (当該施設で) 構造解析が可能であることを明らかにした。

一方、実験室の整備を行っている間 (平成 13 年度)、代表研究者はアルダブラゾウガメから2種類のヘモグロビン (Hb A と Hb D) を精製し、Hb A ならび Hb D を構成しているすべてのグロビン鎖の全一次構造の決定を行った (原著/2 論文、タンパク質および DNA はデータバンクに登

録／8 件)。これらの全一次構造の情報は、Hb D の立体構造を構築する時の基本的な情報（分子置換法による構造決定を行うため不可欠）となる。

研究課題の Hb D の結晶化については、研究支援者の桑田隆生氏（当該研究課題の研究従事者の一人）が微小結晶の作成に成功した。今後、微小結晶を十分な大きさに成長させ、X 線回折像を収集し立体構造を明らかにして行く。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

平成 14 年度

- ・アルダブラゾウガメのヘモグロビン Hb D の結晶を十分な大きさに成長させる（現有の結晶の 3 倍を目指す）。
- ・ R-AXIS 4+ で結晶回折像のデータを取得する。
- ・ 回折像のデータを CNX プログラムソフトおよび Quantam プログラムソフト等で構造の精密化を行い、最終的に Hb D の立体構造の構築を完成する。

[使用実験室名、マシンタイム、レーザー波長、光強度等を含む]

実験室# : D-105 / D-104 / D-103 を使用

平成 14 年度以降

共同研究者／ユーザー等による本格的な構造解析実験が開始できる。

とくに高分子構造解析研究分野は、一人の研究者で解析に最適なタンパク質を多数準備し、施設の発展を期することに限界がある。そこで、平成 14 年度後半期または平成 15 年度以降は、当該施設を共同利用していただける多数の研究者（学内および学外）の参入が不可欠である。共同利用を活発にさせる具体案を考案することが必要となる。

## 実験備品等

[備品の保守関係] グループ共用

- ・ R-Axis 4++ の保守

R-AXIS-4++ 本体（ミラー・CPU 含まず）送水含む

- ・ COMTEC 製品保守

-消耗品-

- ・ 結晶作成用試薬（CrystalScreen2、PEG/ION Screen、緩衝液類など）

- ・結晶作成用プラスチック製品などの消耗品  
(結晶作製用プレート、22mmカバーガラス、バキュームグリス、など)
- ・X線回折装置運転の消耗品(結晶のマウント用消耗品を含む)  
(Heガス、結晶マウント用ループ、ガラスキャピラリー、など)
- ・エッペンドルフピペット(0.5~10.0 μl用)+チップ
- ・エッペンドルフピペット(100~1000 μl用)+チップ

-実験器具-グループ共用

- ・グローブボックス
- ・デシケーター+N<sub>2</sub>ボンベ
- ・液体窒素保管容器
- ・光学顕微鏡(撮影装置は現有を併用)

[旅費]

- ・宍倉(医学部 - 電子線利用研究施設/往復20回)
- ・桑田(国内/学会発表2泊3日。ただし、宍倉は医学部出張予算を使用)

# 自由電子レーザーの組織再生効果に関する研究

---

## 研究代表者

日本大学 歯学部 助教授 清水 典佳

## 研究従事者

日本大学 歯学部 助教授 清水 典佳

日本大学 歯学部歯科臨床系（矯正学） 大学院生 石丸 透子

日本大学 歯学部歯科臨床系（矯正学） 大学院生 和田 みずき

日本大学 歯学部歯科臨床系（矯正学） 大学院生 馬矢原 琴枝

## 研究目的

低出力レーザーには創傷治癒作用や、骨修復促進作用があることが報告されている。我々も *in vivo*, *in vitro* の実験で半導体レーザーに骨形成促進作用があることを報告している。しかし、レーザー光は波長等の物理的性質により種々の生物学的作用を引き起こすことが報告されているため、低出力レーザー照射により組織誘導効果を最大に発揮する照射条件を見出すとともに、レーザーの組織誘導促進メカニズムを解明することにより低出力レーザーの歯科臨床応用をはかる。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

自由電子レーザー光が未だ得られていないため、平成 13 年度は低出力半導体レーザー照射器を用い、レーザー照射による骨形成メカニズムについて検討した。ラット胎仔由来培養骨芽細胞に 10 分間レーザー照射を行い、骨の成長因子である *insulin-like growth factor (IGF-I)-I* のタンパク及び遺伝子発現について検討した。またリコンビナント(r)IGF-I や IGF-I 抗体を作用させてレーザー照射したときの *bone nodule* 形成能についても検討を行った。その結果、(r)IGF-I 作用群では *bone nodule* 形成は顕著に促進された。レーザー照射による *bone nodule* 形成促進作用は IGF-I 抗体を作用させると対照群レベルまで低下した。また、IGF-I のタンパク及び遺伝子発現は照射後に顕著に増大した。

以上のことから、レーザー照射による *bone nodule* 形成促進作用は、骨芽細胞が産生する IGF-I を介して起こっていることがわかった。

また、実験装置はすべて設置されており、すぐに使用できる状態であるが、レーザー光が得られるまで、細胞培養用のインキュベーターとコールターカウンターはメンテナンスの関係で稼働させていない。今後レーザー光を培養細胞まで誘導する光ファイバー様の装置が必要である。

## 研究成果

Shimizu N, Ozawa Y., Ueda Y. Ishimaru T., Iwase T., Abiko Y., Namura S. low-intensity laser irradiation stimulates bone nodule formation via insulin-like growth factor-I expression in rat calvarial cells. submitted

## 実験計画（平成 14 年度以降）

ヒト顎骨から採取した骨芽細胞を培養し、種々の波長の自由電子レーザー照射を 10 分間行い骨様結節形成を定量し、骨様結節形成を最大に促進する条件をいくつか見出す。その条件で培養骨芽細胞に同様にレーザー照射を行い、細胞から mRNA を回収し、マイクロアレイ解析システムを用い多くの遺伝子発現レベルの変化を検討する。

マシンタイムは 10 分を実験に合わせ数十回照射する。

レーザーは長は 830nm 半導体レーザーで骨形成促進作用が得られているので、まずこの前後の波長を使用する。その後試行錯誤でいくつかの波長を検討する。光強度は  $4\text{J}/\text{cm}^2$  を考えている。

## 実験備品等

実験機器

レーザー光を培養細胞まで誘導する光ファイバー用装置

消耗品

培養器具

培養液、血清

mRNA 抽出試薬

蛍光標識試薬

マイクロアレイ用スライドグラス

量子科学研究所交通費

スポット用遺伝子

(スポット用遺伝子(ETS1220,ヒト 9000 遺伝子)は今後 3 年分を松戸歯学部・安孫子教授と共同で購入する予定。)



# 放射光 CVD・PLD 法による環境半導体成膜

---

## 研究代表者

日本大学 理工学部 助教授 鈴木 薫

## 研究従事者

日本大学 理工学部 電気工学科 助教授 鈴木 薫

日本大学大学院 理工学研究科 電気工学専攻 二階 大介

日本大学大学院 理工学研究科 電気工学専攻 小林 将太郎

日本大学 理工学部 電気工学科 井田 秀彦

日本大学 理工学部 電気工学科 田中 慶彦

日本大学 理工学部 電気工学科 益田 恵太

## 研究目的

YAG レーザー光の第3 高調波を用いた Pulse Laser Deposition 法により環境半導体をシリコン基板上に成膜する研究を予備実験として開始した。実験装置としては、真空蒸着装置を Laser Ablation 用に改造し、光学窓やターゲットの移動装置・基板の加熱装置などを組み込んだものが完成した。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

YAG レーザー光の第3 高調波を用いた Pulse Laser Deposition 法により環境半導体をシリコン基板上に成膜する研究を予備実験として開始した。実験装置としては、真空蒸着装置を Laser Ablation 用に改造し、光学窓やターゲットの移動装置

## 実験計画（平成 14 年度以降）

メタンガスやベンゼンガスの放射光による光電離作用によって生成したイオン種を Chemical Vapor Deposition することや、グラファイト・酸化チタン・オキシサルファイドバルクを 3 倍波(THG)の YAG レーザーで Ablation して生成したイオン種を Physical Vapor Deposition する。

このとき、P 型や N 型の不純物を同時にドーピングして PN 接合を形成し、環境半導体として利用する素子の創製をはかる。

試料：メタンガス、ベンゼンガス、グラファイト、酸化チタン、オキシサルファイド

装置：アンジュレータ光、THG:YAG レーザー、真空蒸着装置、薄膜 XRD、FT-IR

希望実験室 アンジュレータ光、THG:YAG レーザー、実験準備室

## 実験備品等

設備備品

- ・自由電子レーザー第 2 高調波発生装置

消耗品

アルゴンガス

メタンガス

ベンゼンガス

グラファイト・酸化チタン等のターゲット

外国旅費

謝金

# パラメトリック X 線による多波長観測と画像解析

---

## 研究代表者

日本大学 理工学部 助教授 鈴木 薫

## 研究従事者

日本大学 理工学部 電気工学科 助教授 鈴木 薫

駒沢短期大学 放射線科 助教授 佐藤 昌憲

日本大学 理工学部 電気工学科 平本 尚寛

日本大学 理工学部 電気工学科 瀬戸 正規

日本大学 理工学部 研究生 森 啓

## 研究目的

パラメトリック X 線による多波長の露光によって得られたファントムの透視画像をイメージングプレートにより観測し、和・差・パルスによる位相差などの画像処理を行うことで鮮明化することを実験の目的とする。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

YAG レーザー光の第 3 高調波を用いた Pulse Laser Deposition 法により環境半導体をシリコン基板上に成膜し、その膜質を評価するために実験装置としては微小部 X 線回折装置と粉末 X 線回折装置を用いている。結晶構造の解析にはリードベルト解析法を用い、基本的な解析を行っている。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

波長の異なるパラメトリック X 線パルスを入骨ファントムに照射し、多重露光で得られる透視画像をイメージングプレートで観測する。この結果を画像処理し、和・差・パルスによる位相差検出などの処理を施し、透視画像の鮮明化や組成の異なるファントムの場所的な分布測定を行う。試料：入骨ファントム、イメージングメッシュ

装置：パラメトリック X 線、微小部 X 線回折装置、粉末 X 線回折装置、  
イメージングプレート

希望実験室 パラメトリック X 線、微小部 X 線回折装置、粉末 X 線回折装置、  
アンジュレータ光、実験準備室

## 実験備品等

消耗品費

人骨ファントム

昆虫ファントム

イメージングメッシュ

イメージングバルク

外国旅費

謝金

# 自由電子レーザーを用いた歯質切削条件に関する研究

---

## 研究代表者

日本大学 歯学部 教授 西山 實

## 研究従事者

日本大学 歯学部 教授 西山 實

日本大学 歯学部 講師（専任扱い） 菊地 久二

日本大学 歯学部 助手 小森 規雄

日本大学 歯学部 助手 勝呂 尚

## 研究目的

歯質切削に対して最適な波長と出力などのレーザー照射条件の検討

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

平成 13 年度、本研究の実験は行っていない。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

未定

## 実験費、旅費

未定

# フォトカソードマイクロ波電子銃の開発

---

## 研究代表者

日本大学 量子科学研究所研究所 教授 早川 建

## 研究従事者

日本大学 量子科学研究所研究所 教授 早川 建

日本大学 量子科学研究所研究所 助教授 田中 俊成

日本大学 量子科学研究所研究所 専任講師 早川 恭史

日本大学 学術フロンティア支援スタッフ 横山 和枝

日本大学 理工学研究科 量子理工学専攻 博士課程後期2 菅野 浩一

日本大学 理工学研究科 量子理工学専攻 博士課程後期2 境 武志

## 研究目的

本研究は、可視から紫外領域の自由電子レーザーを発生させるために必要な、フォトカソードマイクロ波電子銃を開発することを目的とする。

可視から紫外にかけての短波長の自由電子レーザーは、赤外・遠赤外の場合に比べて、さらに良質の電子ビームが要求される。電子線形加速器のビームの特性は主に、低エネルギー部の、空間電荷効果が顕著に現れる領域で決まる。すなわち、電子銃における陰極からの電子の引き出し電圧が高ければ高いほど良質なビームが期待できる。現在赤外の自由電子レーザーの発生に使用している静電場を用いた電子銃では、放電による制約のため、5~10MeV/m程度の電場で、100~200kVの加速電圧が上限となっている。これに対して、マイクロ波共鳴空洞を利用した電子銃では、これより一桁以上大きい電場と加速電圧を、放電させることなく作り出すことができる。

マイクロ波電子銃では、この大きな電場と加速電圧により低エネルギー領域を速やかに通過させ、空間電荷効果による電子ビームの質の低下を最小限に抑えることができる。また、フォトカソードを組み合わせるにより、熱陰極を使った場合に問題となるバックボンバードメントによるパルス幅の制限を取り除くことができる。



## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

マイクロ波共鳴空洞及びビームトレースのシミュレーションコードを用いて、空洞内電磁場分布及び、その電磁場による電子ビームの軌道の解析を行い。最適な空洞形状を求めた。これに基づいて、マイクロ波電子銃の設計を行い、前年度に製作を完了した。

フォトカソードをドライブするレーザーは、量子効率を考慮して、YAG レーザーの 3 倍高調波を増幅して使うことにした。パルス幅、約 55psec、繰り返し、89.25MHz、パルス列の長さ 20 $\mu$ sec、パルス当たり 40 $\mu$ J のエネルギーを持つドライブレーザーを製作した。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

マイクロ波電子銃の低電力試験を行い、空洞内に励振される電磁場分布の確認及び、導波管との結合係数の調整等を行う。次に、大電力試験を行うためのテストベンチを組み立て、大電力投入時の熱的変形、空洞内放電の有無などの確認を行う。

加速マイクロ波を 64 分周した信号により、ドライブレーザーにトリガーをかけ、マイクロ波に同期したレーザーパルスになるように調整する。

ドライブレーザーをフォトカソードに照射し、量子効率を測定する。

マイクロ波電子銃を加速器に組み込むためのレーザービームラインを設計する。

## 実験備品等

消耗品

マイクロ波素子

電子部品

電気部品

パソコンソフトウェア

旅費

# パラメトリック X 線放射による波長可変単色 X 線源の開発

---

## 研究代表者

日本大学 量子科学研究所 専任講師 早川 恭史

## 研究従事者

日本大学 量子科学研究所 専任講師 早川 恭史

日本大学 量子科学研究所 教授 佐藤 勇

日本大学 量子科学研究所 教授 早川 建

日本大学 量子科学研究所 助教授 田中 俊成

## 研究目的

125MeV 電子線形加速器を用いた単色 X 線源を開発し、応用研究に利用できるように実用化することを目的とする。電子エネルギーの制約から、従来の制動放射を利用する方法では単色 X 線源の実現は困難であるため、高エネルギーの電子線を結晶性物質に照射することによって生じるパラメトリック X 線放射 (PXR) という現象を X 線源の素過程として採用する。PXR には単色性、指向性に優れ、結晶の角度によって波長の選択が可能である。ビーム電流の大きい線形加速器と組み合わせることにより、ピーク強度に優れた単色パルス X 線源の実現が期待できる。PXR による X 線源を実用化するために、専用ビームラインや PXR 発生装置を開発し、X 線ビームラインの整備を行なう。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

平成 12 年度までに PXR の発生装置と専用電子ビームラインの設計と製作を行ない、平成 13 年 3 月にビームラインの設置が完了した。平成 13 年度には並行して開発を進めていたゴニオメータのリモート制御システムを PXR 発生装置に実際に導入した。設計通りに制御できることが可能であったが、一部配線ミスなどの不具合が見つかったため、修理を行なうこととなった。

PXR 専用ビームラインに関して低ビーム電流での特性試験を開始したが、新しいビームラインであるため適切な運転パラメータを見つけるまでには至っていない。そのため、X 線ビームライ

ン下流に設置される集光光学系の性能評価を優先し、数値シミュレーションを行なった。その結果、単色のマイクロビームが期待できることがわかった。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

PXR 発生装置のハードウェアの大部分は完成しているが、制御系の細かい配線などに未整備なところが残っているので、それを早急に整える予定である。制御システムは TCP/IP によるイーサネットを介した制御をクライアント-サーバモデルで実現している。サーバの開発は終り、テスト用のクライアントプログラムによって意図した通りの制御ができているが、利用研究へ応用するにはユーザが使いやすいクライアントソフトウェアを開発する必要がある。将来的にも制御パラメータのデータベース化が望まれるので、それを踏まえた開発を行なっていく。

実験的には、まずは新しい電子ビームラインの試験運転を進めて高品質で安定したビームが得られるパラメータを探し、PXR の観測実験へと進展させていく。観測に成功した次ステップとしては、得られる X 線の特性や発生装置としての制御の精度などの確認を行なっていく。また、PXR はビームプロファイルや偏光特性にユニークな特徴をもっているため、その実験的な検証も行ないたい。

単色性、輝度にすぐれた X 線マイクロビームを実現するには、X 線ビームラインに導入された集光系を機能させることが不可欠であるので、その整備も順次行なっていく予定である。

## 実験備品等

X 線用 CCD カメラ

消耗品

電子回路部品

ケーブル等

旅費

# コヒーレントで単色な X 線・光に誘起された クラスター、ナノ結晶の新光機能の探索

---

## 研究代表者

日本大学 文理学部 教授 望月 章介

## 研究従事者

日本大学 文理学部 教授 望月 章介

日本大学 文理学部 教授 村山 和郎

日本大学 文理学部 教授 浅地 哲夫

日本大学 文理学部 助手 中西 太宇人

東北大学 多元物質科学研究所 助手 伊師 君弘

## 研究目的

この研究では以上の本研究代表者の最近の発見とクラスター研究の成果を基礎に、クラスター、光物性、放射光等の研究者を結集して「基板結晶上に担持された状態の希土類金属酸化物クラスター、ナノ結晶と細孔中に捕えられた状態の炭素フラーレン」について、本学原子力研究所の波長可変コヒーレント単色ピコ秒パルス列光源を用いてクラスターの構造縮重性に由来する X 線誘起及び光誘起光物性変化現象や X 線誘起及び光誘起化学反応を研究して新しい光機能を有した材料物質を開発する為に、以下の二つの事柄を解明する。

### (1) 固体表面に担持された希土類金属酸化物のクラスター、ナノ結晶の X 線誘起・光誘起可逆的光スペクトル変化現象のダイナミクスの解明

クラスター、ナノ結晶には同一環境の下で複数の原子的構造を取り得るという構造縮重性と電子状態の縮重性(価数揺動性、混合原子価性)がある。このクラスターを強いコヒーレント単色光子場の下に置いて電子的コヒーレントな励起状態をつくと価数変化により全く異なった光学的性質を持つ別の状態に転移させる事ができる可能性がある。また、この状態のクラスターを雰囲気を選んで、別の適当な波長の強い光子場に置くと元の状態に戻せる可能性もある。このような事が可能になり、各々の状態を固定できれば新しいタイプの光メモリーへの開発に道が開けるであろう。このような観点に立って X 線及び光誘起構造相転移や価数変化が期待でき

る希土類金属酸化物のクラスター、ナノ結晶を対象に光物性変化現象のダイナミクスの解明と転移相を固定化する方法を探索する事を目的とする。

## (2) 細孔中に捕えられた炭素フラーレンのX線誘起・光誘起可逆的化学反应のダイナミクスの解明

炭素フラーレンクラスターを単色コヒーレントパルス光子（X線及び光）で多段階・多光子励起して種々ある化学反応経路のうち特定の反応経路を選んで選択的に化学反応を起こさせてある生成物をつくる。また、これを別の波長の適当な波長の強いパルス光で励起して元に戻す。各々の反応物を永続的に固定できれば上記（1）と同様に新しいタイプの光メモリー素子への開発に道が開けるであろう。このような観点に立って光誘起構造相転移が期待できる炭素フラーレンのサブナノ粒子等を対象に光誘起可逆的化学反应のダイナミクスの解明と反応物を固定化する方法を探索する事を目的とする。

## 研究経過（平成13年度）実験準備の状況など

$\text{Eu}_2\text{O}_3$  のナノ粒子・薄膜等やナノメートル空洞に閉じ込められた炭素フラーレン  $\text{C}_{60}$  や  $\text{C}_{70}$  が紫外レーザー光の下で室温にて永久的な光スペクトル変化を示し、これらが別種の雰囲気ガスの下での紫外レーザー照射や別の波長のレーザー照射で元の状態に戻せる事を世界に先駆けて発見した。この研究ではこの我々が発見した逆行可能な紫外レーザー光誘起光スペクトル変化現象を中心に新たな物質を追加して詳細な研究を行った。つまり、希土類金属酸化物、遷移金属酸化物、 $\text{AgI}$  や  $\text{AgI}$  系超イオン導電性ガラス、炭素フラーレン等のナノメートルサイズの粒子試料を作製した。この研究で発見した室温で起こる  $\text{Eu}_2\text{O}_3$  のナノ粒子・薄膜等の逆行可能な光誘起スペクトル変化現象は消去可能な光メモリーとして有望である。現在、この  $\text{Eu}_2\text{O}_3$  に近接場光学顕微鏡で紫外レーザー光でナノメートルの分解能で情報の書き込み・消去を行おうとした。このために近接場光学顕微鏡を設計・試作した。

## 実験計画（平成14年度以降）

使用実験室名、マシンタイム、レーザー波長、光強度等を含む

332nm で 10mW 以上: 自由電子レーザーがこの波長で発振しないのであれば、当研究室に現有していると同程度の He-Cd レーザー(金門電気製定価¥2,200,000-)を準備して下さればそちらで実験ができます。

## 実験備品等

酸化ユーロピウム 200g

光学測定用可変雰囲気試料チャンバー

交通費（文理学部一電子線研究施設）

# 放射光によるスーパーダイヤモンドの合成

---

## 研究代表者

日本大学 理工学部 教授 山本 寛

## 研究従事者

日本大学 理工学部 教授 山本 寛

日本大学 理工学部 助手 岩田 展幸

## 研究目的

本研究の目的は、高圧下で C60 集合体に強力な放射光を照射することにより、ダイヤモンド的結合による 3 次元フラーレンポリマーを合成し、その驚異的特性を実験的に明らかにするところにある。

本研究の最も著しい独創性は強力な紫外線により、フラーレン分子をダイヤモンド的な炭素集合体に変換することを目指すところにある。ダイヤモンド的に結合した C60 分子ポリマーは理論的にはダイヤモンドを上回る強度を持つことが理論的には予想されている。しかし、この種の実験は未だ世界中でどのグループも試みてはいない。

紫外線による C60 分子のポリマー化反応については既に幾つかの実験事実が報告されている。しかし、大量のフラーレンをポリマー化するに足る、強力な紫外線は容易にうることはできなかった。そこで、現在 LEBRA にて開発されつつある自由電子レーザーから放射される、波長が一定でかつ可変な強力なる紫外線を応用することに着目した。光による合成では、本質的には高温を必要としない。したがって、高圧アンビルの形状・サイズの制限が少なく、非常に大きなサイズのサンプルを得ることができる。

結果として得られる 3 次元的 C60 ポリマーはダイヤモンドを上回る強度と、グラファイト並の粘りを持つ、スーパーダイヤモンドと呼ぶにふさわしい特性をもたらすと期待される。

## 研究経過（平成 13 年度）実験準備の状況など

まず、C60 集合体に対する基本的なポリマー化反応機構を調べるために有用な C60 超薄膜を分子線エピタキシャル装置により作製した。えられた薄膜は、最密充填構造を持ち、基板結晶上で単結晶化していることが確認された。今後このサンプルをもとに、紫外線照射による C60 分子の

結晶構造の変化について、RHEED による表面結晶構造解析を行いながら、光反応機構を検討する予定である。

一方、一定の高圧力を真空中で加えることの出来る、特殊な真空チャンバーならびにその中に設置される、C60 試料を圧力下で保持するアンビルを作製した。このアンビルには所望の紫外線を試料に照射できる窓を設置した。現在のところ、紫外線照射実験には至っていないが、今後光照射による基本的な反応を調べていく予定である。

## 実験計画（平成 14 年度以降）

本年度の実験は、光励起極限プロセス反応レーザー室において進められる。

実験設備の計画としては、まず実験室への放射光取り出し装置を立ち上げる。また、合成装置の側に設置される SHG システム（本年度申請備品）を介して比較的高輝度の紫外線を発生させ、試料合成用真空チャンバー内に導入することを試みる。

サンプル合成の予備実験として、 $1\mu\text{m}$ ～ $1.3\mu\text{m}$  の範囲で波長を変化させ、えられる  $0.35\mu\text{m}$ ～ $4.5\mu\text{m}$  の SHG 光（紫外光）を C60 に照射し、光吸収量を測定しながら、重合反応に寄与する光の波長を明らかにする。この時、光強度は大きくある必要はない。

続いて、特定された波長の光を用い、圧力・温度を変化させる条件のもとで C60 重合を試みる。この時、圧力・温度と得られる重合体の構造との相関を調べ、基本的な相図を明らかにする。この段階では、値としては未だ不明であるが、一定以上の光強度を満足する必要があるだろう。

実験にあたっては、試料作製、真空装置の調整のため、5 日/週の頻度で 1 日約 6 時間程度実験室を使用する。通常時期の光照射実験では、マシンタイムは 1 日/週、約 2 時間程度を予定している。

## 実験備品等

可搬型の SHG システム

消耗品

- ・ C60 原材料費 50g
- ・ AFM プローブ端子
- ・ 液体窒素

旅費

- ・ 研究成果発表のための国内学会出張 延べ 8 人・日（新潟、仙台）



---

発行日	2002年8月（2002年9月改訂・増刷）
編集・発行	日本大学電子線利用研究施設 〒274-8501 千葉県船橋市習志野台7-24-1 日本大学工学部船橋校舎 物理実験B棟 TEL:047-469-5489 FAX:047-469-5490 <a href="http://www.lebra.nihon-u.ac.jp">http://www.lebra.nihon-u.ac.jp</a>
発行責任者	佐藤 勇