

令和元年6月24日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05432

研究課題名(和文)細胞核への精密照射を目的とした粒子線の高解像度検出技術の開発

研究課題名(英文) Development of high-resolution visualization method of single-ion tracks for precision irradiation of nucleus

研究代表者

大道 正明(Omichi, Masaaki)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・主任研究員(定常)

研究者番号：10625453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,500,000円

研究成果の概要(和文)：粒子線の飛跡検出技術は高分子の微細加工技術だけでなく癌の粒子線治療や植物ミュートーション技術などさまざまな分野において重要である。本研究では、粒子線が引き起こす高分子架橋反応を利用することで、新しい粒子線飛跡検出技術の開発に成功した。本手法は高分子架橋反応後の水に対する吸水性の違いが引き起こす膨潤により、粒子線照射部位が隆起することで、粒子線の照射位置を検出することができ、異なる核種の照射に対してもそれぞれの照射位置を検出することができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの粒子線飛跡検出技術はエッチング工程が必要であった。しかし、エッチング工程は強アルカリなどの危険な薬品を使う必要があり、ドラフトなどの特殊な設備が必要であり、照射試験後すぐに測定を行うことが難しかった。本手法では、高分子架橋反応を利用することでエッチング工程に関わる問題がなく、照射試験後すぐに測定を行うことができる。本提案は粒子線の精密照射の最も中核となる飛跡検出技術の開発であり、その成果は医学、生物、化学など多岐にわたるため、その意義は非常に大きい。

研究成果の概要(英文)：Prompt determination of spatial points of single-ion tracks plays a key role in high-energy particle induced-cancer therapy and gene/plant mutations. We develop a simple and safe method for the visualization of single ion-track with high resolution by exposing the irradiated polyacrylic acid (PAA) and N, N'-methylene bis acrylamide blend films to water vapor. This method require no etching and could easily distinguish each scar of the charged particle, even in the case of highly dense ion tracks. Furthermore, the scar peaks of different kind ion tracks are separated very easily, even if in the high fluence.

研究分野：放射線化学

キーワード：荷電粒子 高分子 架橋反応 飛跡検出 架橋剤 グラフト重合

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

粒子線は物質中で散乱効果が小さく、直進性が高く、他の線種に比べて三次元的かつ局所的に与えるエネルギーをコントロールできるため、癌治療や植物の遺伝子改良などの医学、生物への応用が行われている。しかし、これらの技術は未だ発展途上であり、癌治療であれば、正常細胞へのダメージを抑えることができず、植物の遺伝子改良においては、偶発的にしか突然変異をおこすことができない。現在、一つの細胞へ一つの荷電粒子を照射することまでは可能になっているが、細胞内の特定の部位を狙い通り照射することは難しい。粒子線の照射によって細胞の応答へ影響が最も強く出ると考えられる細胞核の大きさは  $10\ \mu\text{m}$  程度であり、その細胞核内への照射部位の違いによる細胞応答性の違いを分析するには、数十 nm レベルの高解像度で粒子線の照射位置を検出できる材料が必要となる。現在、粒子線の飛跡に沿って CR-39 という高分子にダメージ (分解反応) を与え、ダメージをエッチングにより拡大させることで、照射位置を特定している。しかし、エッチング溶液に曝すために、照射した場所から CR-39 を移動させる必要があり、その際に元の位置から数  $100\ \text{nm}$  程度ずれるため、それ以上の高解像度分析は困難である。また、長時間エッチング溶液に浸漬しなければいけないため、粒子線を照射後すぐに照射できているか確認することはできない。さらに、粒子線の照射位置が重なる高密度照射に関しては、エッチング痕が重なるため、評価が難しいという根本的な問題が存在する。本研究では、分解反応を使うのではなく、高分子の架橋反応を利用することで、エッチングを利用しない飛跡検出技術の開発を目指した。

### 2. 研究の目的

ポリアクリル酸 (PAA) と *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド (MBAAM) を用いることで、高分子の架橋反応が起こり、水蒸気をさらすことで、隆起することはわかっていたが、そのメカニズムについて詳細はわかっていない。そこで、本研究では、そのメカニズムを解明することを目的とし、さらに粒子線への反応性を調整することができないか検討した。反応性を調整することができれば、低線エネルギー付与 (LET) から高 LET の荷電粒子まで飛跡検出が可能になり、異なる核種の荷電粒子の照射位置も同時に検出可能となる。

また、粒子線の飛跡を可視化する方法として、高分子架橋反応以外にも、放射線グラフト重合法の初期過程にも着目した。放射線を照射した高分子には、照射部位にラジカルが発生し、それをモノマー溶液に浸漬することで、ラジカルがモノマーと反応し、グラフト重合反応が起きる。そのため、グラフト重合の初期過程を原子間力顕微鏡 (AFM) で可視化することができれば、新しい荷電粒子の検出方法にも利用できると考え、検討を行った。

### 3. 研究の方法

本研究では、以下の3項目について検討した。

#### (1) 高分子架橋反応を利用した粒子線検出メカニズムの解明

オスミウム荷電粒子を照射した分子量の異なる PAA ( $M_w=5,000, 25,000, 250,000, 450,000, 750,000$ ) と MBAAM を混合した高分子-架橋剤混合薄膜を室温にて、3 分間飽和水蒸気下で静置した。その後、その高分子-架橋剤混合薄膜の表を AFM で観察し、PAA の分子量の違いによる、表面形状の変化を調べた。また、面照射部が隆起する原因を調べるために、照射による隆起を確認後、7 日間真空乾燥を行うことで、隆起がどのように変化するか確認した。

#### (2) 異なる核種の粒子線照射位置の検出

PAA ( $M_w=25,000$ ) と MBAAM を混合した高分子-架橋剤混合薄膜に対して、オスミウム荷電粒子を照射後、キセノン荷電粒子を照射し、室温にて、3 分間飽和水蒸気下で静置した。その後、その高分子-架橋剤混合薄膜の表面を AFM で観察し、オスミウムとキセノン核種のそれぞれの照射位置の検出を試みた。

#### (3) 電子線照射による放射線グラフト重合の可視化

ポリエチレン (PE) 薄膜をシリコン基板上にドロップキャストによって作成し、その薄膜に  $50\ \text{kGy}$  の電子線を照射した。照射後、グリシジルメタクリレートモノマー溶液に浸漬し、 $40^\circ\text{C}$  で反応を行った。反応 15 分後、30 分後のポリエチレン薄膜表面の AFM で観察し、グラフト重合の初期過程を確認した。

### 4. 研究成果

#### (1) 高分子架橋反応を利用した粒子線検出メカニズムの解明

図 1(a)-(c) に分子量の異なる PAA- MBAAM -メチレンビスアクリルアミド混合薄膜を 3 分間飽和水蒸気さらした時の AFM 画像を示す。分子量が  $45,000$  の時のみ薄膜の表面形状のラフネスが大きかった。これは、PAA の分子量が大きくなるにつれて溶解性が減少し、 $45,000$  だと完全に溶解しなかったため、薄膜作成時にこのような凹凸ができたのだと考えられる。図 1 (f) に照射痕の断面形状を示す。照射痕の幅に関しては、分子量による差はなかったが、高さに関しては、分子量が大きくなるにつれて増加し、分子量が  $25,000$  で飽和に達した。以上の結果から、粒子線に対しての反応性を調整するには、利用する PAA の分子量を選択することが有効であることが判明した。

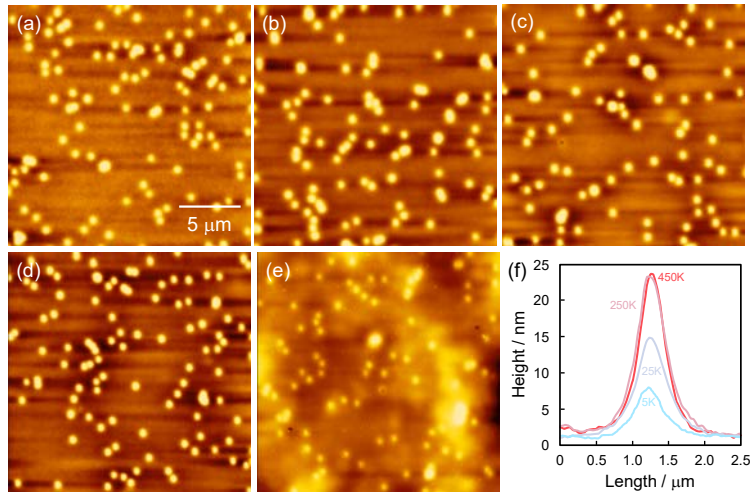


図 1. 分子量の異なる PAA-MBAAM 混合薄膜の照射痕 ( $M_w$ =(a) 5000, (b) 2,5000, (c) 25,000 (d) 45,000 and (e) 75,000) (f) 分子量の違いによる照射痕の断面形状の違い。

高分子の分子量が反応性に影響を及ぼすことと飽和水蒸気にさらすことで表面が隆起することから、粒子線の照射の有無による、吸水性の変化が照射痕の隆起に繋がっているのではないかと考えられる。そこで、隆起した照射痕に対して、真空乾燥を行い、どのように照射痕が変化するか確認した(図2)。真空乾燥を開始して1日後においては、ほとんど変化はみられなかったが、7日間真空乾燥を行うことで、明らかに高さが減少していることが確認された。以上の結果から、照射痕の隆起は吸水による膨潤が引き起こしていることが判明した。粒子線が照射されることによって、PAAとMBAAMの架橋反応を引き起こし、その部分が親水化すると考えられる。照射位置とそれ以外で、吸水性に差が生じ、照射位置の方が膨潤する。そのことが、照射痕を発生させていると考えられる。PAAが低分子の場合は、吸水性が高く、未照射部分と照射部分で吸水性に差がでにくく、照射痕の隆起量が低かったと考えられる。一方、PAAの分子量が高い場合は、吸水性が低く、未照射部分と照射部分で吸水性の差が大きかったため、照射痕の隆起量が高かったと考えられる。膜厚を厚くすることや、架橋剤の混合比を増加させることでも反応性を向上させることは可能であり、分子量、膜厚、架橋剤の混合比の3つの条件を調整することで、さまざまな核種の重粒子線を検出することが可能になる。

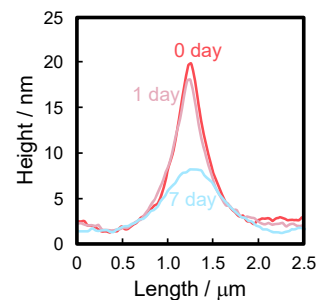


図 2. 真空乾燥による照射痕の断面形状の変化

## (2) 異なる核種の粒子線照射位置の検出

図3にオスミウム荷電粒子とキセノン荷電粒子を照射した後、3分間飽和水蒸気にさらした時のAFM画像を示す。2種類の照射痕があることが確認できる。オスミウム荷電粒子とキセノン荷電粒子のLETはそれぞれ14,600 eV/nmと10,800 eV/nmであり、また線量は $2.0 \times 10^7$  ions/cm<sup>2</sup>と $1.0 \times 10^7$  ions/cm<sup>2</sup>であることから、大きい方がオスミウム、小さい方がキセノンであり、照射位置を簡単に判別可能である。このように本手法は、荷電粒子のLETが引き起こす、架橋反応の違いにより、その照射位置をナノメートルオーダーで判別可能である。また、CR-39のような分解による検出では難しい、粒子線のオーバーラップに対しても、照射痕の3次元形状を確認することで、どこに照射されたかを容易に判断することが可能であるため、新しい飛跡検出技術として利用が期待される。

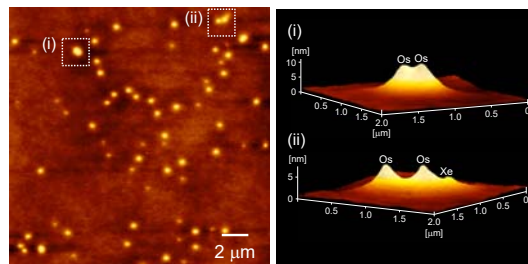


図 3. PAA-MBAAM 膜によるオスミウムとキセノン荷電粒子の照射位置の検出

## (3) 電子線照射による放射線グラフト重合の可視化

図4にPE表面のAFM画像を示す。PE表面には結晶ラメラ相と非晶層が混在するセミクリスタリン構造を取ることが知られており、白い繊維状の結晶ラメラ相が確認された。グラフト反応前では、繊維径は平均29.1 nmであったが、反応15分後では32.7 nm、30分後では、36.9 nmと増加していることが確認された。これは、結晶相の表面でグラフト反応が起こっていることを示唆しており、グラフト重合の初期過程の可視化に成功したと考えられる。結晶化度や線量をより詳細に評価することで、グラフト重合のナノレベルでのメカニズムの解明が進み、粒子

線の飛跡検出技術への応用が期待される。

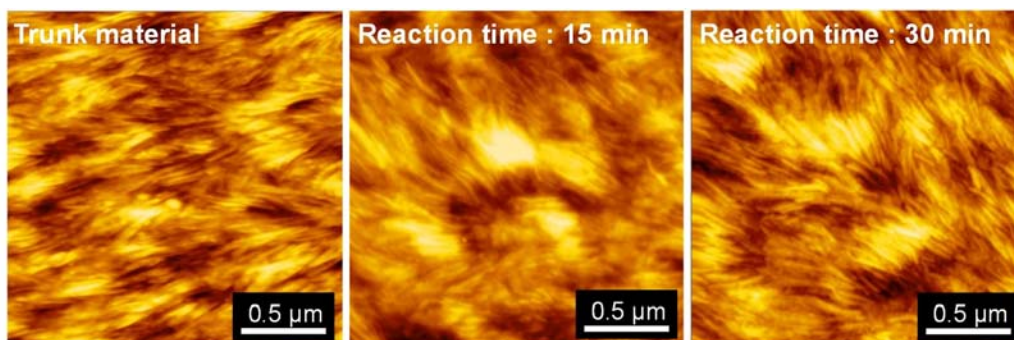


図 4. グラフト重合反応による PE 薄膜の表面形状変化

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

①Satoshi Tsukuda, Shu Seki, Masaaki Omichi, Masaki Sugimoto, Akira Idesaki, Tohru Sekino, and Takahisa Omata

“Fabrication of Au nanoparticles on poly(vinylpyrrolidone) nanowires exhibiting reversible frequency change of localized surface plasmon resonance”

*AIP Advances*, **2018**, 8, 015314. (査読あり)

②Satoshi Tsukuda, Masaaki Omichi, Masaki Sugimoto, Akira Idesaki, Vikas S. Padalkar, and Shu Seki

“Anisotropic swelling of hydrogel nanowires based on poly(vinylpyrrolidone)fabricated by single-particle nanofabrication technique”

*J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2016**, 54, 1950-1956. (査読あり)

③Masaaki Omichi, Hiromi Marui, Vikas S. Padalkar, Akifumi Horio, Satoshi Tsukuda, Masaki Sugimoto, and Shu Seki

“Fabrication of thermoresponsive nanoactinia tentacles by a singleparticle nanofabrication technique”

*Langmuir* **2015**, 31, 11692-11700. (査読あり)

〔学会発表〕(計 3 件)

①Natuki Hayashi, Masaaki Omichi, and Noriaki Seko

Observation of polyethylene lamella layer on radiation grafted materials

The 12th SPSJ International Polymer Conference, 4th-7th December 2018, International Conference Center Hiroshima.

②林 菜月、陳 進華、濱田 崇、大道正明、瀬古典明

ポリエチレン薄膜上の放射線グラフトブラシのナノ構造観察

第 66 回高分子討論会 2017 年 9 月 19 日-22 日、愛媛大学 城北キャンパス

③大道正明、高橋憲司、櫻井庸明、杉本雅樹、関 修平

高分子架橋反応を利用したイオントラックの可視化

第 59 回放射線化学討論会 2016 年 9 月 20 日-22 日、国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 高崎量子応用研究所

〔図書〕(計 1 件)

①Shu Seki, Tsuneaki Sakurai, Masaaki Omichi, Akinori Sacki, and Daisuke Sakamaki

High-Energy Charged Particles: Their Chemistry and Use as Versatile Tools for Nanofabrication

Springer **2015**, P1-74

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

①名称：液体中の気体を脱気する方法、脱気容器及び化合物を反応させる方法

発明者：大道正明、植木悠二、瀬古典明、前川康成

権利者：国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

種類：国内特許出願

番号：特願 2019- 19684

出願年：2019 年 2 月 6 日

国内外の別：国内

②名称：反応溶液、エマルション重合方法、エマルション重合用添加剤及びエマルション重合

用の添加剤キット

発明者：大道正明、瀬古典明、前川康成

権利者：国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

種類：国内特許出願

番号：特願 2019-019705

出願年：2019年2月6日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.qst.go.jp/site/taka/1996.html>