



# RIKEN ニュース

理化学研究所

## イオンビーム照射による細胞の 接着・増殖性向上とパターン化

生体適合性材料とバイオ素子の開発を目指して

最近、生体のすばらしい機能を人工材料や人工材料と生体材料を組合せて発揮させようとする試みの研究が盛んに行われている。1981年にMcAlearらによって提唱された“バイオチップ”は将来のエレクトロニクスの夢でもあるバイオエレクトロニクスの代表的な言葉である。また生体系の情報伝達機構を理解し、モデル化する試みも行われている。その中のひとつがニューロコンピュータである。これは生物の脳神経系の働きを模倣した情報処理機械と言える。神経回路のアルゴリズムを指向した研究から、神経細胞などの生体材料を直接用いその機能を理解しようとする研究まで、様々な分野の人々が関心を持って研究に参加している。生物、数学、物理分野の研究者、コンピュータ関係の研究者、あるいは私に関係している高分子をはじめとする材料分野の研究者達が、遠いかも知れないゴールに向かって研究をすすめている。今回我々は図1に示すようにイオンビーム照射に

より高分子材料表面を改質し、細胞の接着・増殖性を著しく向上させたり、マスクを用いて部分的にイオン注入することで細胞のパターン化することに成功した。この研究がバイオエレクトロニクス基盤技術や生体適合性材料の開発に役立つことを期待しながら、研究内容を紹介する。

細胞やタンパク質などの生体物質の材料表面への接着あるいは吸着に関する研究は、これまで数多くある。また、材料表面をプラズマ処理や化学修飾などにより改質し、生体物質の材料への接着や粘着を制御しようとする試みも行われている。材料表面を部分的に改質することにより、生体物質を材料表面上に任意に配列制御することも試みられている。最近、脳の情報処理機構は多方面で関心が持たれており、その解明は重要な課題である。しかし、脳全体を対象にして研究するのは複雑すぎるので、単純な神経回路を人工的に形成し、その情報伝達・処理機構をシミュレート



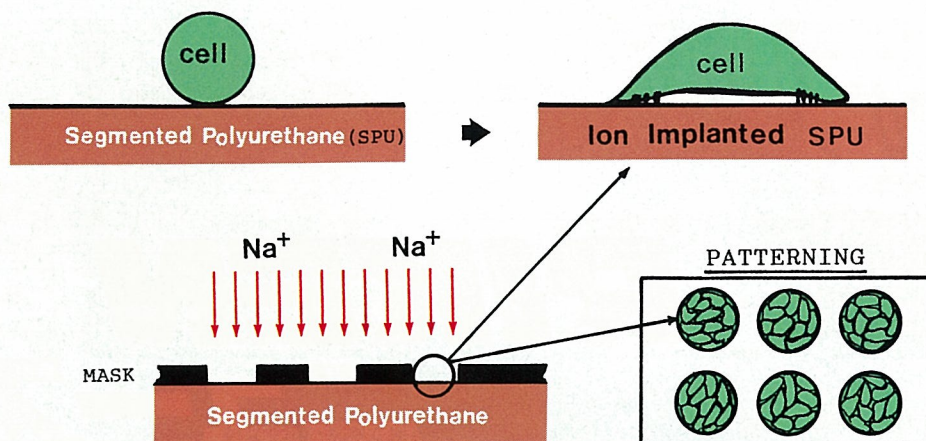


図1 イオン注入による表面改質とパターンニング

する研究の方法が一般にとられている。設計どおりの神経回路を形成するためには、基板になる材料の選択、細胞の微細パターン化技術、細胞接着強度の向上、生物機能の維持など解決すべき点が多い。

我々はこれまでに高分子材料（ポリマー）と血液との相互作用をはじめ、高分子材料上での内皮細胞の増殖性について調べてきた。これまでの研究で、抗血栓性が良く、表面で内皮細胞があまり増殖しない高分子材料があることを確認した。最近、半導体工学分野において利用されているイオン注入法は、注入基板の自由な選択が可能であることやイオン注入の条件を自由にコントロールできること等の利点があるために、高分子材料の表面の改質に利用しようという試みがある。我々も高分子材料へのイオン注入を試み、その表面での細胞の接着性及び増殖性について検討した。

使用したポリマーは主にポリスチレン（以下PS）とセグメント化ポリウレタン（以下SPU）である。SPU上では血栓が起りにくく、また表面上では内皮細胞は増殖しない。PSの上ではもともと細胞が増殖するので、PSは培養シャーレとして一般に用いられている。Na<sup>+</sup>イオンを150KVで加速し、一平方センチ当たり約 $1 \times 10^{15}$ 個のイオンを打ち込み、試料を作製した。イオン注入したフィルム上に牛の大動脈由来血管内皮細胞を播種後、細胞の増殖状態を光学顕微鏡を用いて観察した。

### 1. 内皮細胞の接着・増殖性

イオン注入したSPUと未注入SPU上での細胞の接着・増殖性を観察した結果を図2に示す。イオン注入しなかったSPU上では播種後7日目でも細胞はほとんど接着、増殖しなかった（図2(a)）。

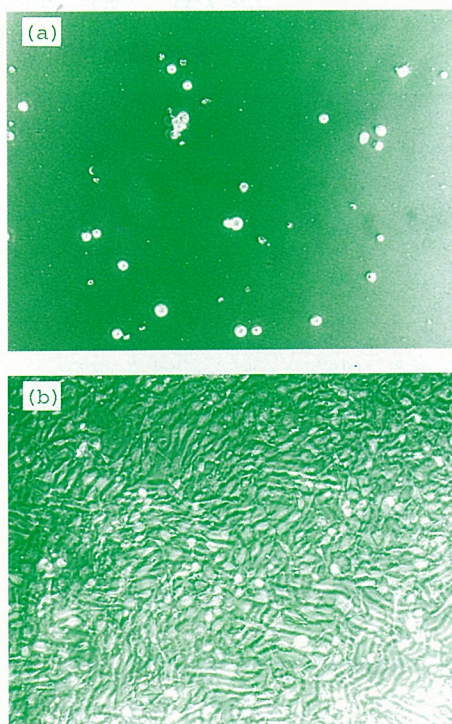


図2 イオン注入したSPU(b)と未注入SPU(a)上での細胞の増殖性



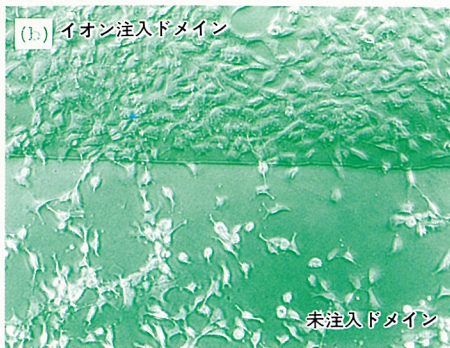
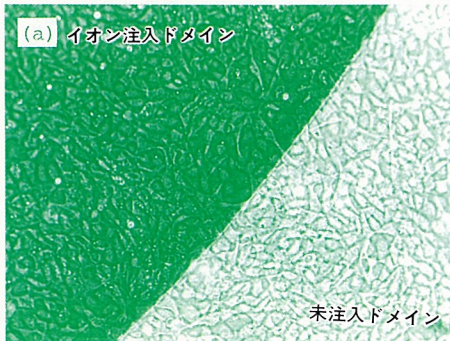


図3 イオン注入したPS上での細胞の増殖性

このSPUにナトリウムイオンを注入すると、細胞の接着・増殖性が著しく改善された(図2(b))。PS上に一平方センチ当たり13,000個の密度で細胞を播種し、7日間培養した場合、図3(a)に示すように、イオン注入の有無に関係なく全表面に細胞が広がって増殖した。しかし、5,200cells/cm<sup>2</sup>の低密度で細胞を3日間培養した場合、図3(b)のように、イオン注入の有無で細胞増殖の様子がかなり異なり、イオン注入したドメインで細胞が密に増殖した。

また細胞播種後2日目で細胞の形態を比較したところ、イオンを注入した部分の細胞は未注入部分の細胞に比べて伸展性が良いことが確認された。

これらの結果は、ポリマー表面にイオンを注入することにより高分子材料表面の構造や性質が変わり、それが細胞の増殖能に何らかの影響を及ぼしたことを示唆している。

## 2. 細胞の接着強度

イオン注入した高分子材料表面と未注入表面で

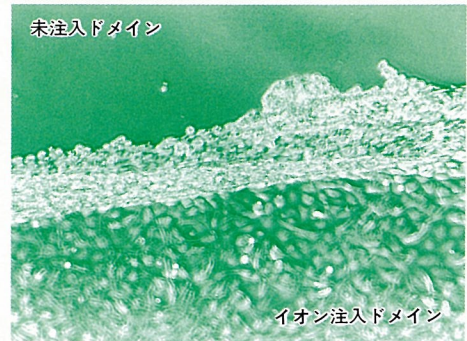


図4 未注入PS上での細胞の剝離

の増殖細胞の接着性の相違を示唆する結果を図4に示す。イオン注入したドメインと注入しなかったドメインが存在するPSの表面上で細胞を7日間培養し、そのシャーレを室温で数時間放置した後、細胞の接着状態を観察した。インキュベータの外へ出した直後では、イオン注入したドメインと未注入ドメインともに細胞で覆われている(図3(a))。しかし、一時間後には、未注入ドメイン(白く見える部分)にある細胞はPS表面から剝離した(図4)。この現象はイオン注入したドメインと注入しなかったドメインの境界域ではっきりとした差として観察された。イオン注入した表面上では、増殖細胞は強く接着していることが示唆される。

## 3. 細胞の移動

マスクを利用し、PS表面上に図5に示すようなイオン注入したドメイン(円内)をつくり、この上で細胞培養を行った。光学顕微鏡で観察した2日目の写真(図5(a))で、イオン注入したPSのドメイン上に細胞が密に集まっている。イオン注入したドメインへ細胞が移動し、そこで増殖することが強く示唆された。また、培養後5日目にはイオン注入した表面に細胞がいっぱいに増殖し、さらに注入したドメインからはみだしている細胞も見られた(図5(b))。

## 4. 細胞間相互認識

SPU表面上に円形のマスクを置いてイオン注入



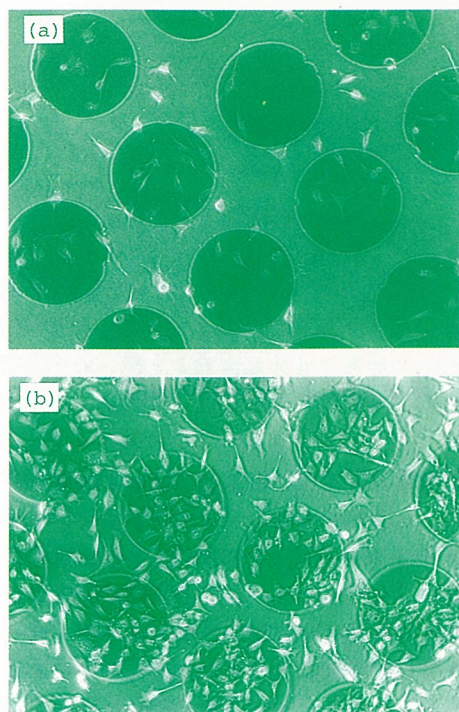


図5 PS上にマスクを置いてイオン注入した時の細胞増殖

し、その表面で細胞を培養した結果を図6に示す。図6(a)は、細胞密度 $5,200\text{cells}/\text{cm}^2$ 播種した場合である。7日間培養しても細胞の数が少なく、一部細胞が存在しないイオン注入ドメインがあるのが見られた。これはイオン注入した各ドメインにわずかしか細胞が存在しなかったり、全く細胞が存在しないドメインがあるような状況下では、各ドメイン内あるいは各ドメイン間で細胞が相互認識できず、ドメイン内での細胞の増殖能が悪いと想像される。播種時の細胞密度を $13,000\text{cells}/\text{cm}^2$ にすると、イオン注入した全部のドメイン上に細胞が接着・増殖した(図6(b))。イオン注入した各ドメインに相互認識するに十分な数の細胞が入っているためと考えられる。異なるドメインに存在する細胞間では細胞増殖に必要な細胞間の認識ができず、一つのドメイン内に存在する細胞間でのみ認識するものと想像される。

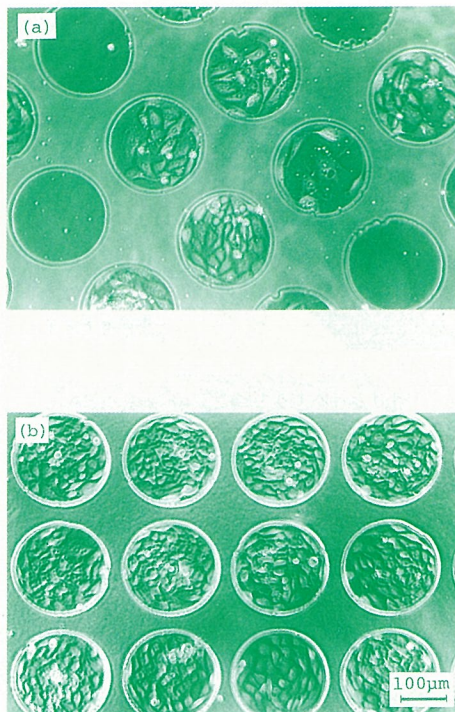


図6 SPU上にマスクを置いてイオン注入した時の細胞の増殖

## 5. パターン形成

細胞が増殖できない材料表面上に任意の形のマスクを置いてイオン注入し、そのドメインで細胞培養することにより任意の二次元パターン化が可能である(図6(b))。

これまで述べたように、イオン注入した材料表面上で細胞を培養すると、細胞の接着・増殖性の向上や細胞の微細なパターン化が可能であることがわかった。現在のところ、細胞の接着性・増殖性の向上のメカニズムは明らかでない。これらのメカニズムを究明することは基質上での細胞の接着・増殖機構の解明など基礎研究として意義あるだけでなく、強い細胞接着力が要求されるハイブリッド型人工臓器、人工皮膚などの医用材料の開発等においても意義あるものと期待できる。また、細胞間相互認識に関する研究、クローニング、コロニーの形成等細胞生物学分野での研究へも応用できよう。さらに、細胞やタンパク質のパターン化は、



文頭で述べたように、神経回路の構築、神経系の情報伝達機構の解明、バイオ素子創製の基礎的、応用的研究にも利用可能と考えられる。

人間が考えたことは、理論的に正しいことならば、それは目のまえに現実的に現われるものだと信じている。人間と同じものを作ることは神様に反すると思うが、生体の機能をモデル化し、真似したものはいつかは可能になるだろうと思う。

なお、この研究は貝原真副主任研究員、雀部博之主任研究員(生体高分子物理研究室)、岩木正哉室長(表面解析室)、鈴木嘉昭委託研究生、日下部正宏氏(ソニー)との共同研究であることを付記したい。



生体高分子物理研究室  
基礎科学特別研究員 李 載錫

## 理研シンポジウム (3月)

テ - マ

担当研究室

開催日

反応制御による表面加工技術	レーザー科学研究グループ	3 / 3
イオンビームと表面・表層・界面のかかわり	表面解析室	3 / 11
第4回「記号・数式処理と先端的科学技術計算」	情報科学	3 / 16
第11回「加速器利用の原子物理」	原子物理	3/23・24
第4回「核物性的手法の物理・化学への応用」	核化学	3 / 26
—メスバウアー分光・ガンマ線摂動角相関・核整列・陽電子分光—		

## 台湾の康楽股長

反応物理化学研究室で「人工光合成素反応に関する研究」を行っている子煩悩なお父さん。

林 如章

日本に滞在してまもなく八年になります。理研ニュースに何か面白いことを書こうとすると、なかなか難しいのです。どちらかと言いますと、短期滞在する外国人が新鮮かつ面白いと思っているものは、私には当たり前に思えるからです。そこで、何について書いたらいいかと言う問題につきあたりました。誰でも他の国にいたら、必ずいい思い出の写真を持っていると思います。最近、娘の写真を整理しているうちに、色々な思い出が頭に浮かんで、中国の古い諺「養兒方知父母恩」(子を持って知る親の恩)を思いだしました。そこで、写真を見ながら記憶を整理して、日本での研究室話を交えて台湾の事情を二、三話してみようと思います。

昭和59年日本交流協会の奨学金で日本にやってきました。「何の理由で日本を選んで留学してきたか?」、「日本に対する印象は?」いろいろな質問が研究室の雑談会でよく聞かれました。当時これは大変難しい質問でした。しかし、今ふりかえて考えて見れば、これはなかなか良い日本語の勉強になったと思っています。確かに、60年代台湾の海外留学は非常に盛んでした。留学先はアメリカにかたよっており、また留学を終えても帰国せず、そのまま留学先で職を得る人たちも多い、いわゆる頭脳流出が顕著にみられたわけです。これは、台湾では専門性を生かす仕事を見つけにくいことが、その原因の一つとされています。しかし、最近、「30年風水輪流転」(10年一昔)になってきました。一つの専門職に海外から3、40人が応募しています。「台湾との文化的類似性や距離の近さ」「奨学金がとれた」「専攻分野での日本の水準が高い」などの理由で日本を留学先を選び、学位を取った私は、逆に台湾の大学で「どうして

日本を選んだの」、「学位修得には何単位が必要か」とよく質問されます。また、母校には化学日本語の授業が設けられています。台湾の大学も日本に対する関心度が高くなったようです。日本留学経験者にとって、一番うれしいニュースは、やっぱり「日本学位の株が急騰中!」です。

一方、日本の新聞社にとって、台湾に関するニュースの株が急騰中らしい。確かに、台湾では87年に、戒厳令が解除されたあと、政治事情が変わり、経済産業構造も変わりつつあります。87年までは、台湾の新聞を読まないで、日本での私も「浦島太郎になる」と思いました。しかし、最近は日本の新聞だけでも「台湾通」になります。政治事情にともない国家予算も変わり、教育予算が増加されて大学の先生の研究環境もかなり改善されたようです。それによって、台湾の学会発表も熱気を帯び、わざわざ海外から参加してPRする留学者も多勢います。その中でも、一番変わったかなーと感じさせられたのは、大学生の金銭感覚です。サービス産業が増えるほど、大学生のアルバイトのチャンスが多くなり、お金に対する感覚もすっかり時代と共に進んでいるように感じられます。し





## US TOGETHER

かし、伝統的なキャンパス生活、例えば台湾式の大学生の合コンや台湾版の“学生援護会”（家庭教師センター）などがまだ残っています。研究室の合宿回覧板に“合コン”という日本語を初めて見たときに、一生懸命に辞書を調べましたが、載っていませんでした。教えてもらったところ、日本式の合コンはほとんど飲み会の方が多らしい。台湾式の合コンでは、ダンス・パーティーやハイキングが主流です。また、先輩に「台湾では、合コン係や幹事とは言いませんが、康楽股長（行楽係長）というクラスのレジヤ係がある」と説明したところ、先輩から「ヘー、恋の便利にコーラック」とジョークが出ました。研究室の

皆が大笑いでしたが、チンプンカンプンなのは、ワタシただ一人でした。

最近、合コン+カラオケがブームになっていますが、日本の学生はカラオケの店に行かないと、一曲も歌えませんネ。もちろん、台湾にもあっちこっちにカラオケの店がいっぱいできています。しかし、台湾のある大学の学生センターには、学生パーティー専用の貸し出しカラオケまで設けられているそうです。都合のよい使用時期を予約したい康楽股長の申込みの列は、いつもナガイそうです。本当に、日本のカラオケ文化は、日本の車より世界中の人々の生活に染み込んだように思っています。

## 新年国際親善パーティー

相互理解を深めるためのこのパーティー、今年1月23日理研食堂で開かれました。参加者は240人以上、外国の方が過半数をこえました。

当夜は地元「和光大鼓の会」のいなせな少女達による熱演が多様な文化を象徴するかのよう  
に轟き、また御馳走は例年になく中国風が多く、

中国、韓国の方が多い感じ。蘭州サイクロトロン研究所の近況、日韓のむずかしい諸問題、また来日したてのビール腹のドイツ青年の話など、さまざまな話題があちこちに飛び交いました。



## 第3回SR国際シンポジウム 「大型放射光施設計画と先端科学技術—表面・界面科学—」 の開催について

大型放射光施設計画推進本部

放射光の出現により、物質表面の原子レベルの情報が著しく身近なものとなり、ここ十数年で表面界面に関する研究は大きく進展してきた。表面または界面からの情報は、半導体材料をはじめとする材料科学のみならず物性科学、物質科学等多分野において有用であり、産業界を含め各分野の研究者の注目を集めている。

理研、日本原子力研究所、(財)高輝度光科学研究センターの3者の共催により開催する今回のシンポジウムでは従来行われてきた各国(欧・米・日)の大型放射光施設計画の進捗状況の報告に加えて、「表面及び界面科学」についての国内外の最先端研究を発表することとしており、表面及び界面についての専門家のみならずこれから研究を始める研究者・技術者をも対象として、広範な研究に関する講演を予定している。

**開催日:**平成4年3月18・19日

**開催場所:**神戸国際会議場

**プログラム:**

第1日 3月18日(水)

### I. 世界の大型放射光施設計画の現状

R.Haensel (ESRF:フランス)「欧州放射光施設(ESRF)建設の現状」

D.E.Moncton (APS:アメリカ)「先端光源施設(APS)建設の現状」

上坪 宏道 (大型放射光施設計画推進共同チーム)「大型放射光施設(SPring-8)建設の現状」

### II. 放射光による表面・界面科学研究(1)

吉森 昭夫 (岡山理科大学)「表面科学研究における放射光の役割」

B.Ocko (Brookhaven国立研究所:アメリカ)「表面相転移」

P.Fuoss (AT&T:アメリカ)「表面での結晶成長過程」

松下 正 (高エネルギー物理学研究所)  
「表面X線回折法による水面上単分子膜の構造」

第2日 3月19日(木)

### III. 放射光による表面・界面科学研究(2)

高橋 敏男 (東京大学)

「X線回折法による表面研究」

J.R.Patel (AT&T:アメリカ)

「定在波法による表面研究」

太田 俊明 (広島大学)

「XAFSによる表面研究」

B.P.Tonner (Wisconsin-Milwaukee 大学:アメリカ)「光電子回折法による表面研究」

尾嶋 正治 (NTT)

「GaAs表面界面の光電子分光」

J.Kirschner (ベルリン自由大学:ドイツ)

「表面磁性の研究」

### IV. 表面・界面科学の将来展望

村田 好正 (東京大学)

「表面・界面科学の将来展望」

(講演は、すべて同時通訳付)

### 参加費

民間団体 18,000円 (当日20,000円)

大学、官公庁、官公立研究所 3,000円

(当日3,000円)

学生 無料

### 問い合わせ先

日本原子力研究所・理化学研究所  
大型放射光施設計画推進共同チーム

☎03-5395-2800



## スポットニュース

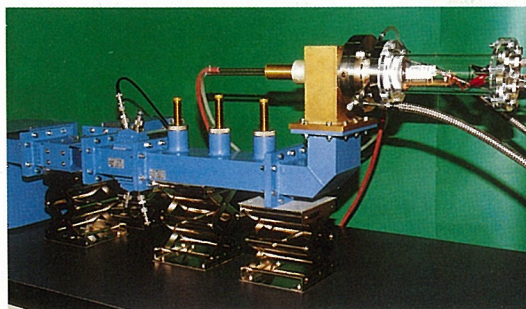
## 真空紫外弗素分子ランプの開発

近年、紫外・真空紫外域の高効率コヒーレント光源として、エキシマレーザーが開発されてきた。このエキシマとは、例えばクリプトン原子(Kr)と弗素原子(F)のように基底状態では結合しないものが、電子ビームや電気放電等によって励起されるとKrFのように結合する分子のことである。エキシマは生成効率がよく (>20%)、基底状態は解離的で大きな反転分布が得られ、電子準位間遷移によって紫外・真空紫外光を発光するため、魅力的な高効率(2%程度)レーザー媒質として用いられてきた。しかし、このエキシマにも泣き所がないわけでない。第一にエキシマレーザー中に吸収媒質を含む点である。第二にこの吸収に打ち勝つだけの高い利得を生じさせる高密度励起が必要な点である。しかも電子付着性のハロゲンガスを含みながらも安定な放電をしなければならない困難さがある。第三に自然放出光やその増幅光(ASE)による損失がある点である。自然放出光は一種の雑音(ノイズ)であってこれを増幅させずに抑えるかはレーザー発振器および増幅器の性能に関わる重要な問題であった。一般には自然放出寿命は波長の3乗に比例するため、とくに真空紫外域では5 ns以下と短くレーザー発振器からレーザー光を効率よく取り出すことは極めて難しい。ではまったく逆に自然放出光を高効率に取り出すランプモードはどうだろうか。このようなレーザーの逆発想からこのエキシマランプは生まれた。

ハロゲン分子のD'準位からA'準位への遷移の中でも弗素分子の遷移は最短波長の真空紫外光を放出するもので、その遷移は電荷移項を伴う光学的遷移であり、発光の下準位であるA'準位への基底状態からの直接励起の確率の小さい点でエキシマと同様に考えることができる。1977年に弗素分子レーザーが初めて発振して以来、

電子ビーム、放電等の励起によってレーザー発振が報告されてきたが、その最適動作は圧力10気圧、励起密度60MW/cm<sup>2</sup>程度の極めて高圧力、高密度励起で実現されていて、効率は0.15%と低いものであった。そこで新レーザー技術グループでは写真に示す新しい高効率真空紫外弗素分子ランプを開発した。励起源としては汎用の2.45GHz連続波(CW)マイクロ波を用いた。発光スペクトルは157nmと166nmに強い発光が見られとくに157nmは従来の弗素分子レーザーのエンドライトスペクトルと同様である。ランプガスはHe希釈の4%F<sub>2</sub>ガス10Torrで、マイクロ波入力310Wのとき発光出力19W、発光効率6.2%が得られた。動作条件は弗素分子レーザーと比べてガス圧力で1,000分の1、励起密度で1,000,000分の1の緩やかな条件で、弗素分子レーザーでは得られない連続真空紫外光が1桁高い発光効率で得られた。

真空紫外弗素分子ランプ光の特徴は、半導体プロセス等の材料ガスに強い吸収特性がある真空紫外光の高効率発光、連続発光、一様照射可能である。レーザー光のように時間的にも空間的にもコヒーレントでないため、コヒーレント光が必要な応用には不向きであるが、光CVD、光エッチング等の多くの応用分野に、上述の弗素分子ランプ光の特徴を生かすことができると期待している。







## 実験の安全管理

第39代米国大統領が誕生したとき「Carter is who」と民衆が言ったとかいう話があった。筑波安全管理室も、何の仕事をしている所なのか理解し難い面があるようである。なかには実験台の流しが詰まった、床に溢水して人が滑って危ないから修理するよう、と管理室に新しい仕事を付加してくれる人もいます。

一般的に安全管理という言葉は、かなり広い意味で使われている。例えば、建物・設備・道路等の不備によって人身事故が発生すると安全管理の問題として扱われる。高圧電気の感電、飲料水からの大腸菌検出、ボイラーの破損等等みなそうである。面白いところでは、中国で「安全管理」と言えば盗難防止即ち警備の意味だという。しかし、これらの「安全管理」は、従来からこと改めた部門が行うのではなく施設管理、衛生管理、警備等それぞれの部門が立派に遂行してきている。

筑波研究センターにおいても同様で、前記に類する業務は、筑波安全管理室で直接関与することはなく、放射線取扱、組換えDNA実験、重金属・有害化学物質取扱、高圧ガス施設使用について施設・設備の管理、業務従事者の健康管理、取扱い物質等の使用・保管・運搬・廃棄等の管理、取扱い物質等の環境への影響防止等の専門的知識・技術を必要とする業務を主におこなっているのが現状である。

これらの業務のうち、放射線、有害化学物質、高圧ガスなどの安全管理は、比較的歴史が古く、有害化学物質等(公害防止関係)についても1967年には法律による規制が実施されている。しかし、組換えDNA実験に関しては、国の組換えDNA実験指針が定められたのが1980年であり、その安全管理もようやく10年を超えただけである。経験が少ないということは、より厳しく安全側に立って管理することである。

ここでは、この組換えDNA実験の安全管理について少し記述してみたい。

組換えDNAの方法は、もともと自然界の微生物間でも行われていたことで、人間が創造した方法ではない。我が国では現在、平成2年には数千件の実験が実施されているとのことであり、希少実験というものでもなくなっている。したがって、これに対する安全管理も一般的に

は放射線、公害対策等と並んで各所で実施されている。

安全管理面で一般の関心が高いものの一つに環境への影響がある。これは具体的にいえば、排水・排気及び固形廃棄物の処理ということになろう。これらの処理を一言でいえば、滅菌処理をして環境への影響を防止することである。微生物を殺滅する方法には、殺菌、消毒、滅菌などがあるが、一般的には滅菌が最も厳しく、日本薬局方では「すべての微生物を殺滅するか除去することをいう」と定義づけられている。滅菌方法は、高圧蒸気法、乾熱法、濾過法、ガス法等があるが、これらは既に常套手段として用いられておりその歴史も古い。

一方、滅菌による安全対策もさることながら、生物学的封じ込め、物理的封じ込めによる微生物等の環境拡散防止も行われている。前者は、特殊な培養条件下以外では生存しない宿主と、実験用でない他の生細胞への伝達性がないベクターを用いることにより、後者は、安全キャビネットを用いるなど実験室内を整備することにより、その目的を達成している。

紙面の関係上詳しく述べられないのは残念だが、組換えDNA実験では、前述の滅菌及び封じ込め方法を併用することで、環境への影響を防止している。

昨今地球の環境破壊が問題となっているおり、組換えDNA実験ばかりでなく、環境に影響を与える全てのものに対して、調和のとれた安全管理が必要なのではないか、安全管理の意味が益々広がる由縁を見るような気がする。



野冬の野生椿(筑波山麓にて1992.2.13)

筑波安全管理室

室長 薄葉 勲

RIKEN ニュース No. 127, FEBRUARY 1992 発行日・平成4年2月28日

編集発行・理化学研究所 開発調査室

〒351-01 埼玉県和光市広沢2番1号

電話 (0484) 62-1111(代表)