赤外自由電子レーザーの応用研究
ー様々な生体関連物質への照射効果ー

川﨑　平康
Takayasu Kawasaki

東京理科大学
赤外自由電子レーザー研究センター

文科省「先端研究基盤共用促進事業」の

光利用支援研究員として業務

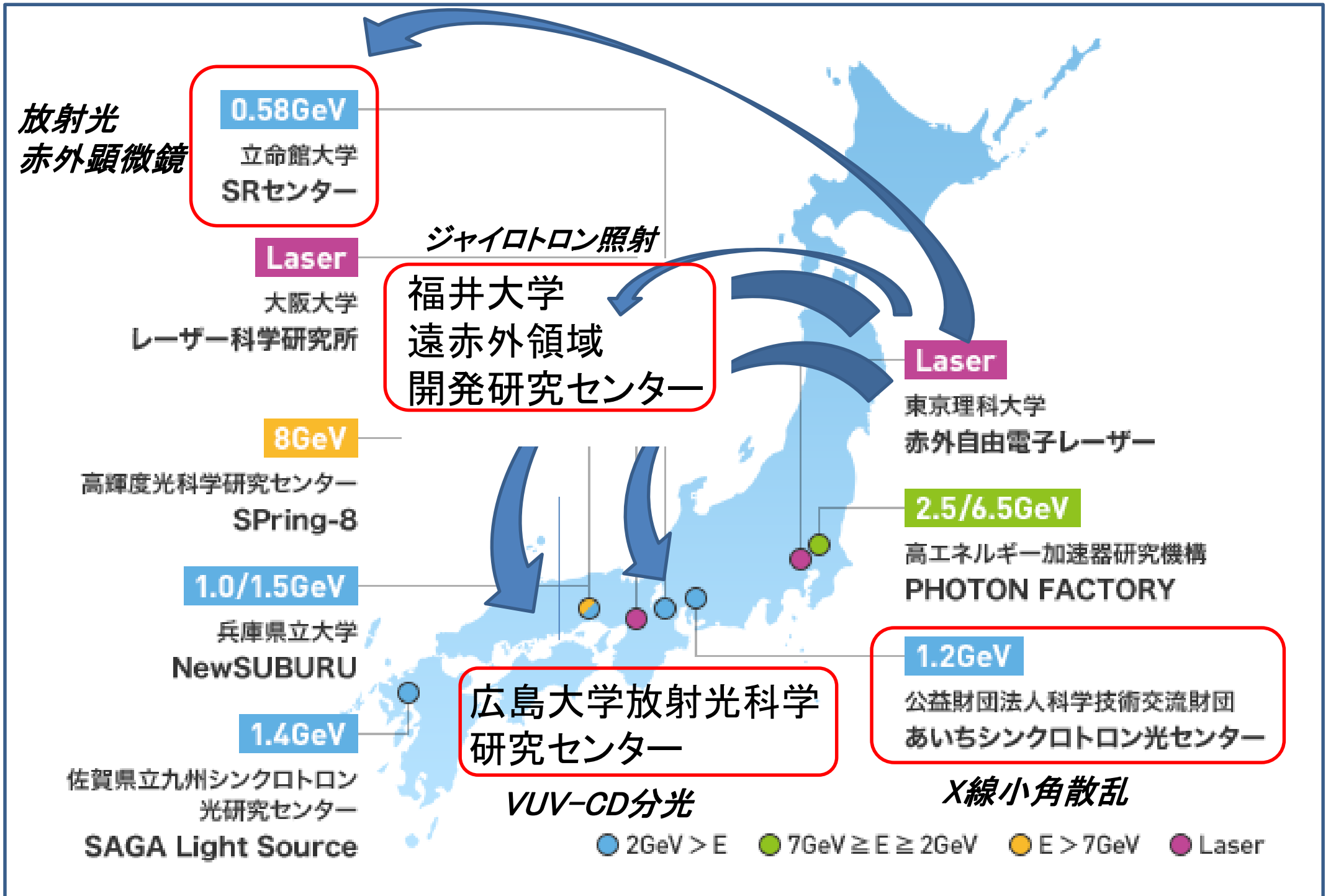
ユーザー支援、FEL利用事例の開拓

ユーザーを集めるには、、、

FEL利用成果を論文として世に出すことがベストな方法である。

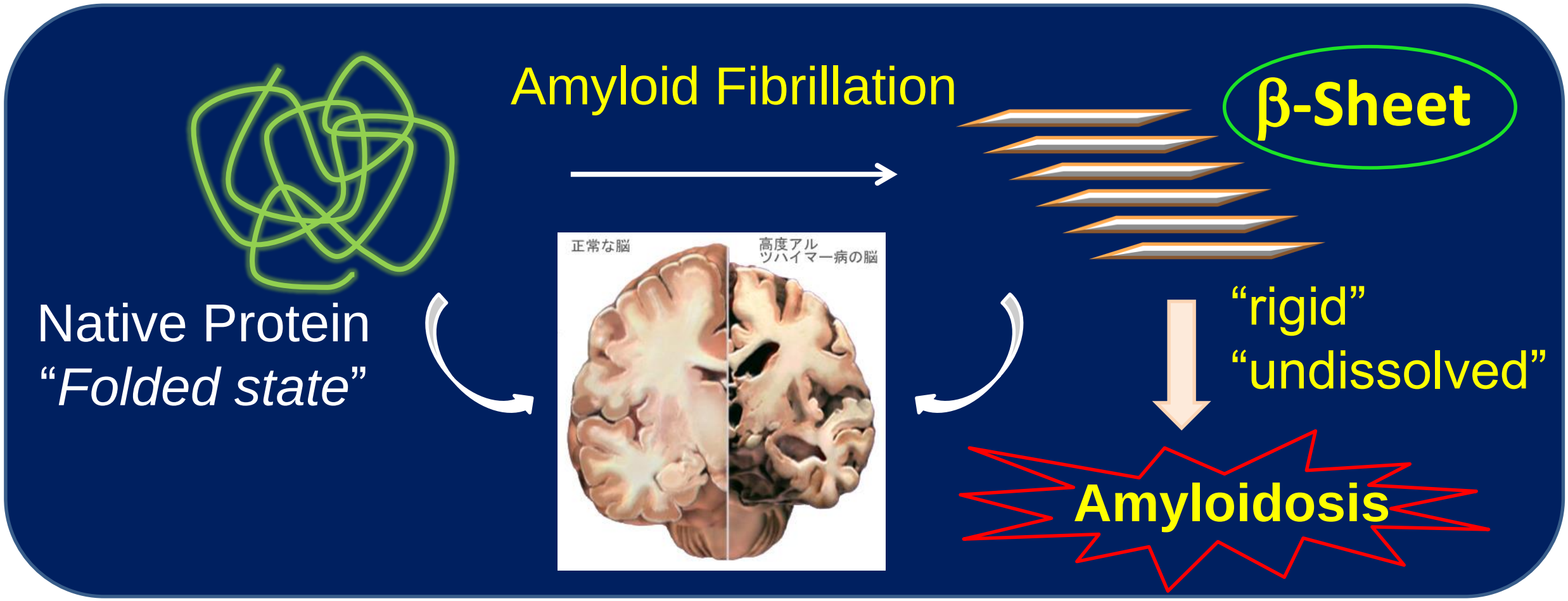
光ビームプラットフォーム

光ビームプラットフォームは、文部科学省先端研究基盤共用促進事業に基づいて形成された、放射光施設と大型レーザー施設の共用を促進するネットワークです。



アミロイド線維

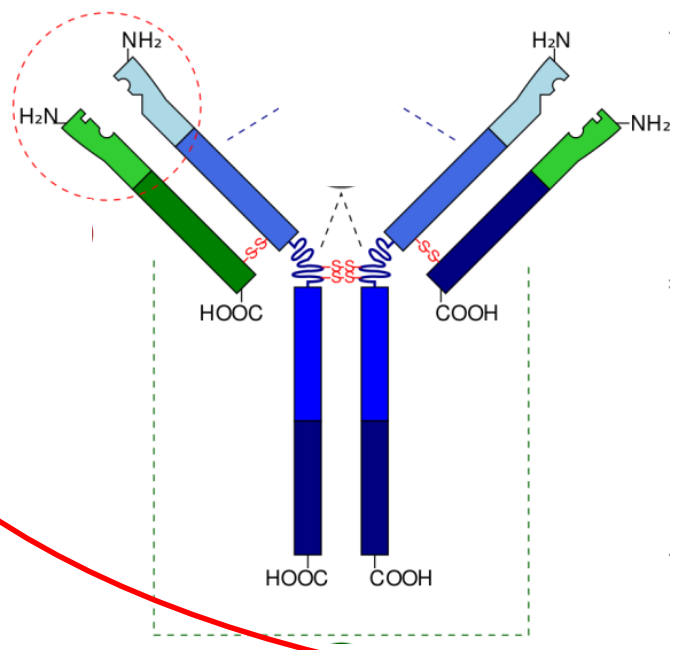
アルツハイマー病



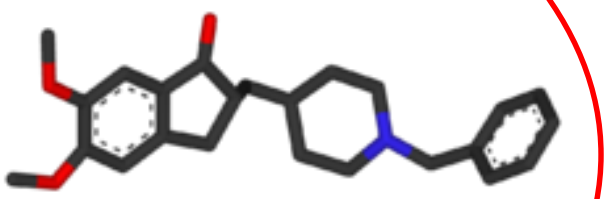
・パーキンソン病, ハンチントン病
・透析アミロイドーシス
・インスリン注射時の皮下アミロイドーシス
・甲状腺がん

従来の治療方法：生化学的及び分子生物学的方法

抗体医薬　線維化を阻害する



低分子医薬



ドネペジル

記憶障害の進行を遅延させる

アミロイド線維を直接分解できない

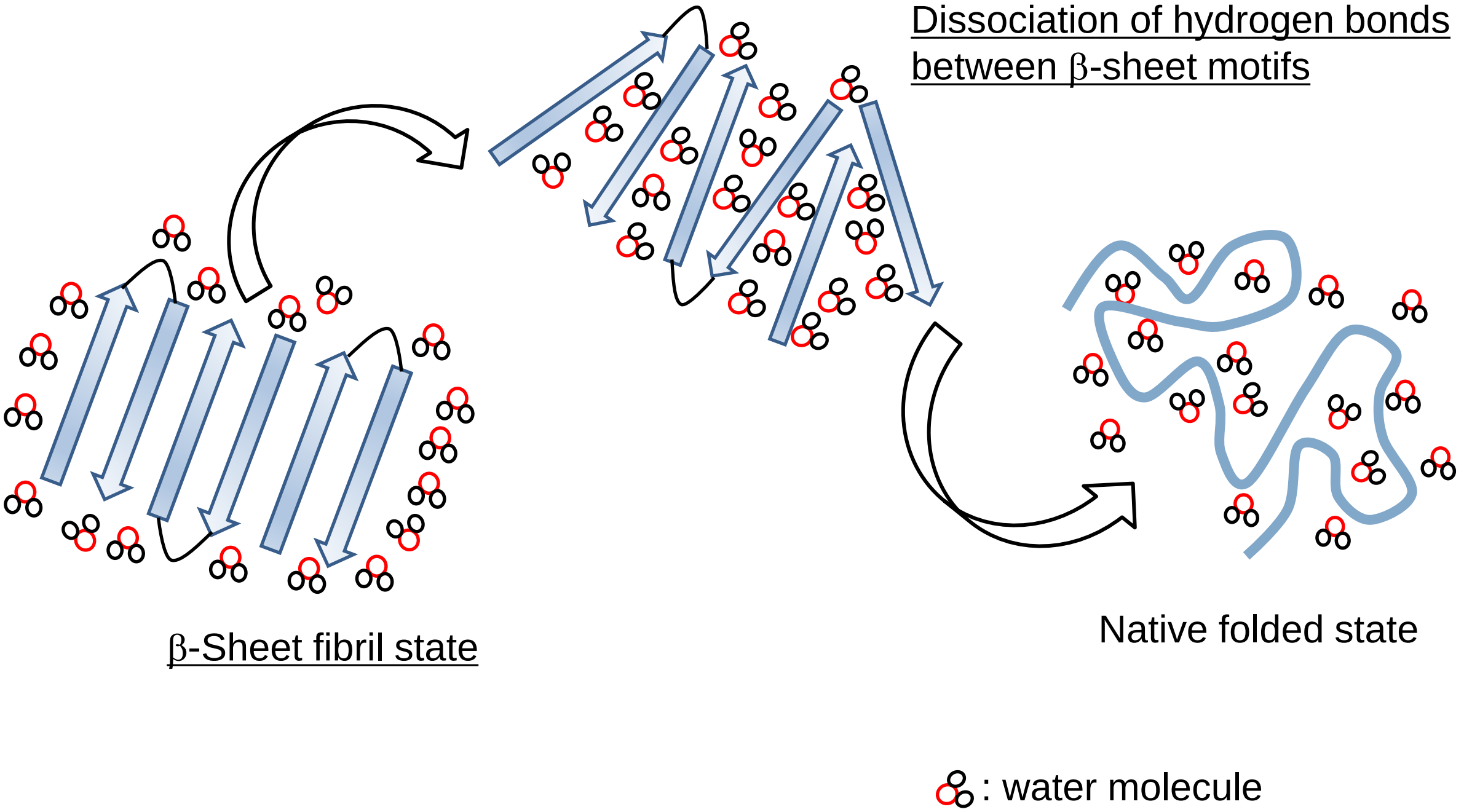
アミロイド線維を融解させる有機試薬の使用

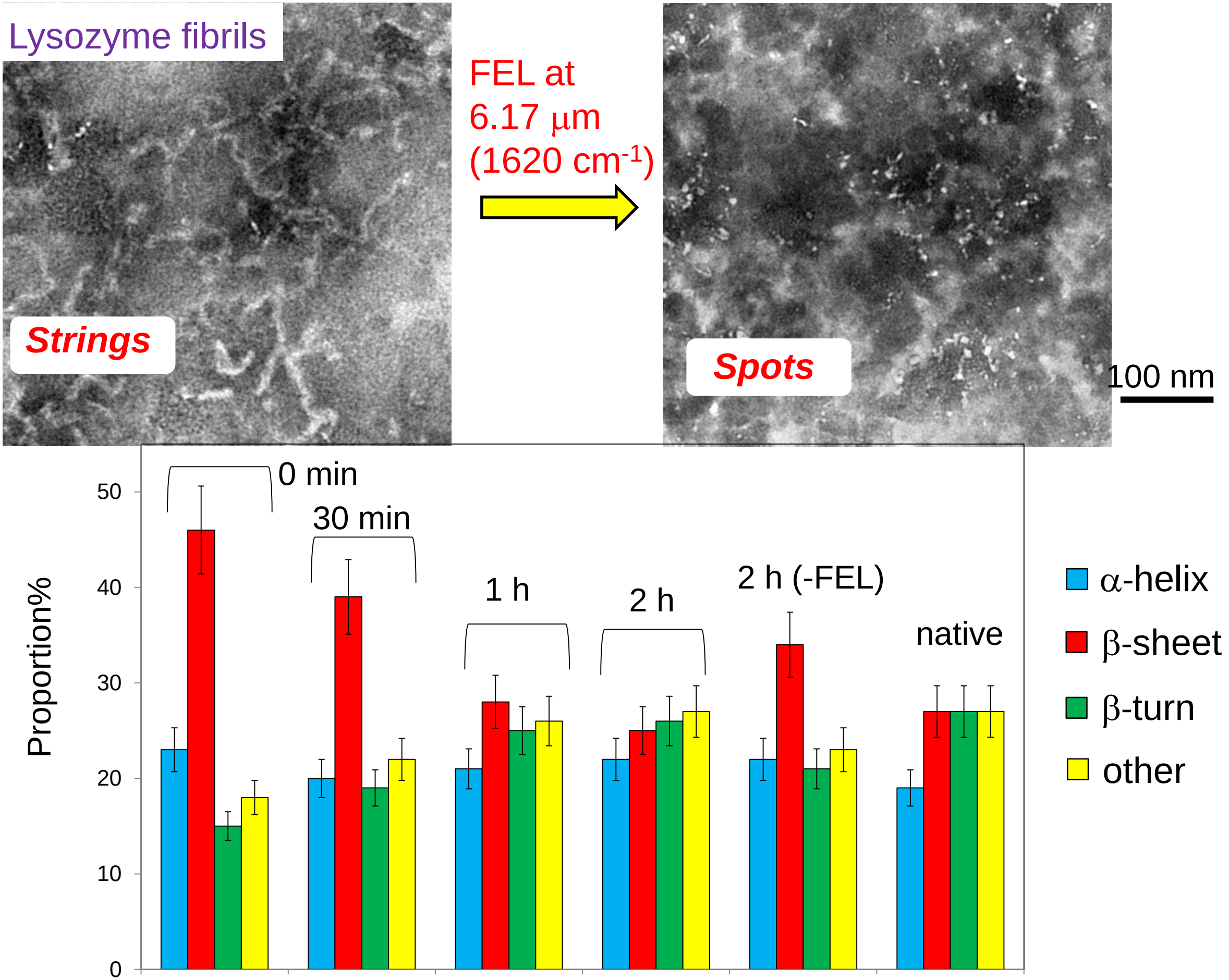
DMSO（ジメチルスルホキシド）　　Urea（尿素）

リウマチ患者への投与　　タンパク変性剤

体内にとって極めて有毒である

FEL 照射によるアミロイド線維の直接分解




Lysozyme fibrils
Strings
FEL at
6.17 μm
(1620 cm-1)
Spots
100 nm
Proportion%
0
10
20
30
40
50
0 min
30 min
1 h
2 h
2 h (-FEL)
native
α-helix
β-sheet
β-turn
other

2012年

Effect of Mid-infrared Free-Electron Laser Irradiation on Refolding of Amyloid-Like Fibrils of Lysozyme into Native Form

Takayasu Kawasaki, Jun Fujioka, Takayuki Imai & Koichi Tsukiyama

The Protein Journal

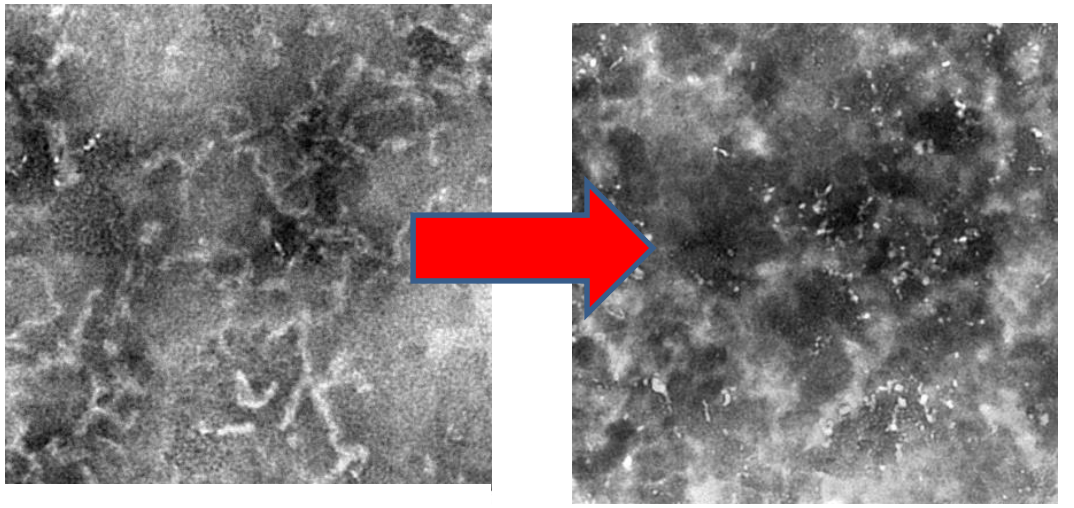
ISSN 1572-3887
Volume 31
Number 8

Protein J (2012) 31:710-716
DOI 10.1007/s10930-012-9452-3

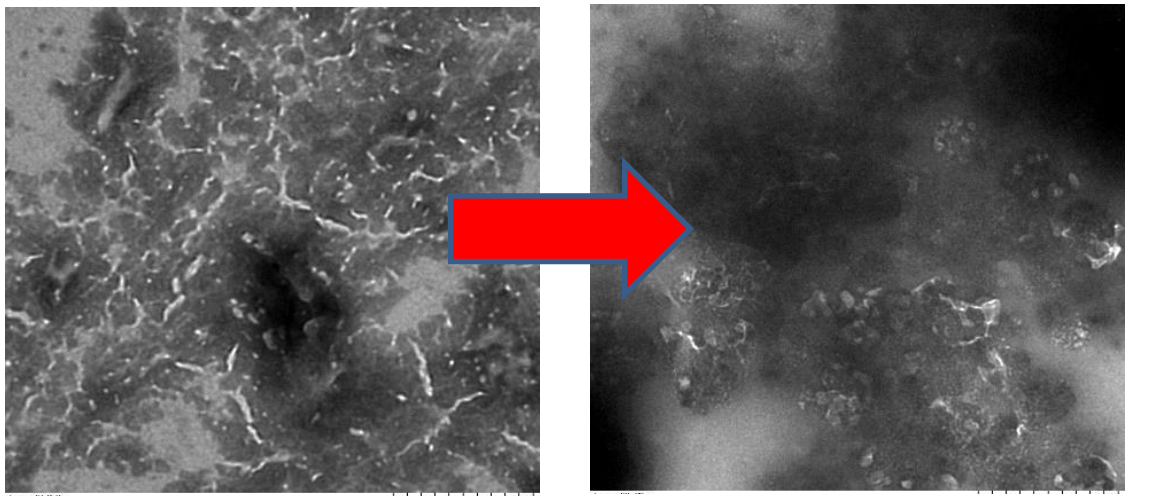
Springer

Dissociation of fibrils by the amide-I specific FEL irradiation

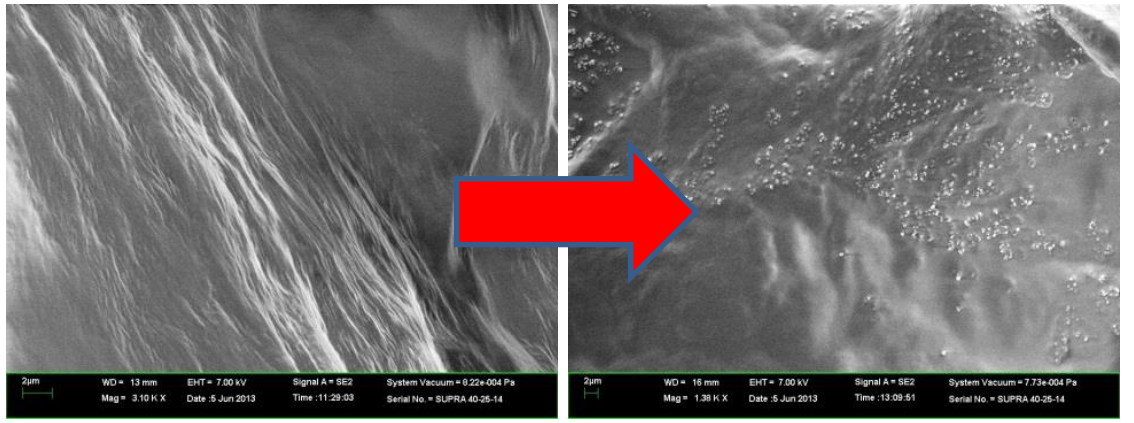
Lysozyme



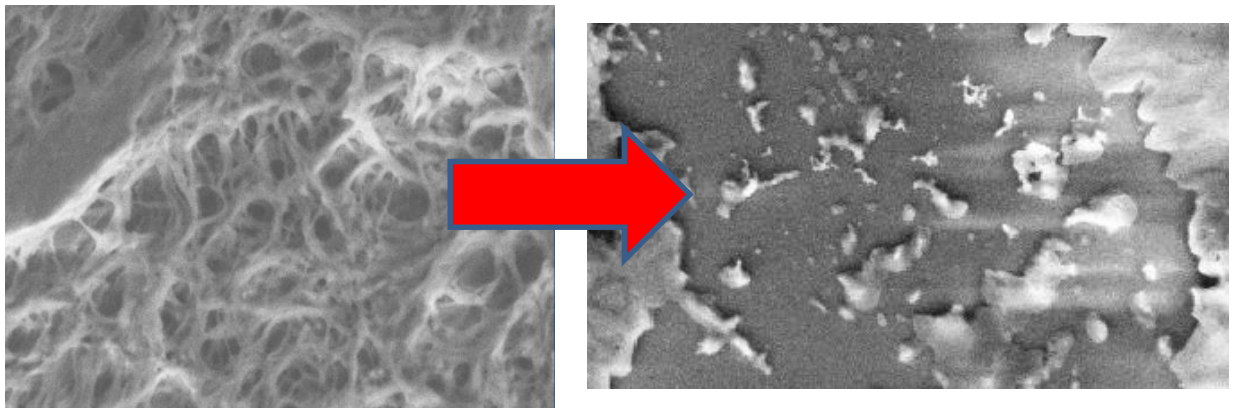
Insulin



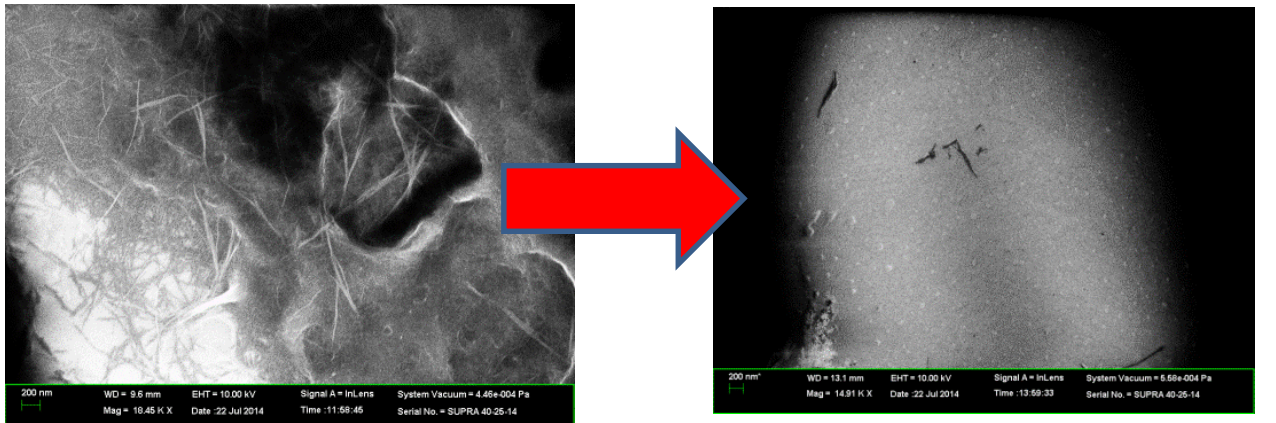
Calcitonin



Polyglutamine

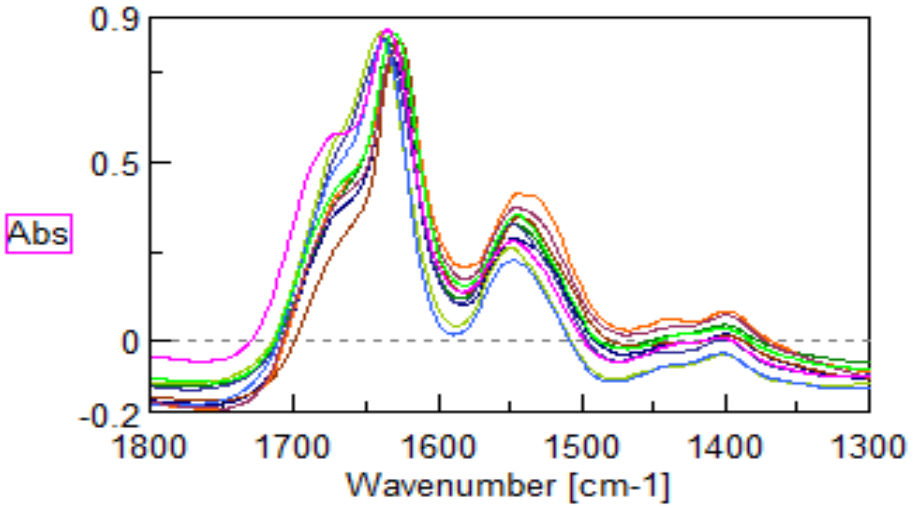


Aβ1-42

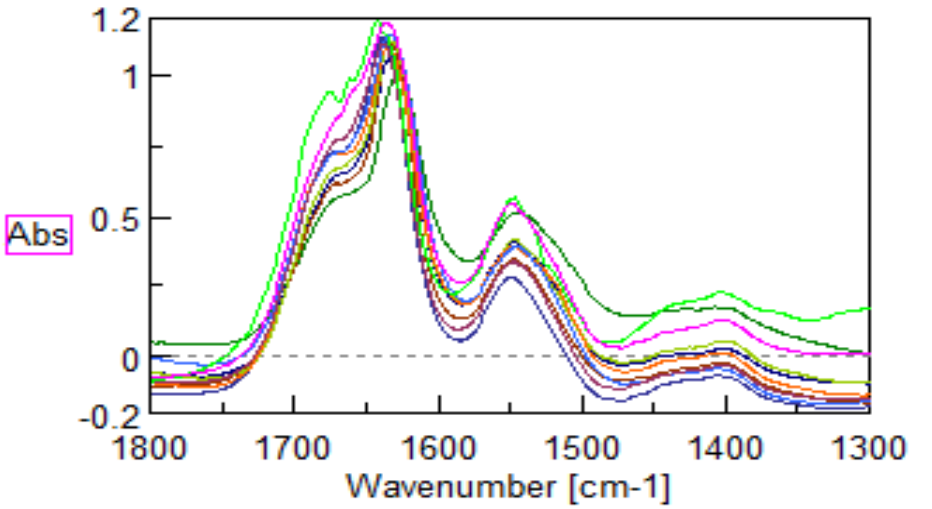


Electron microscopy
Analysis

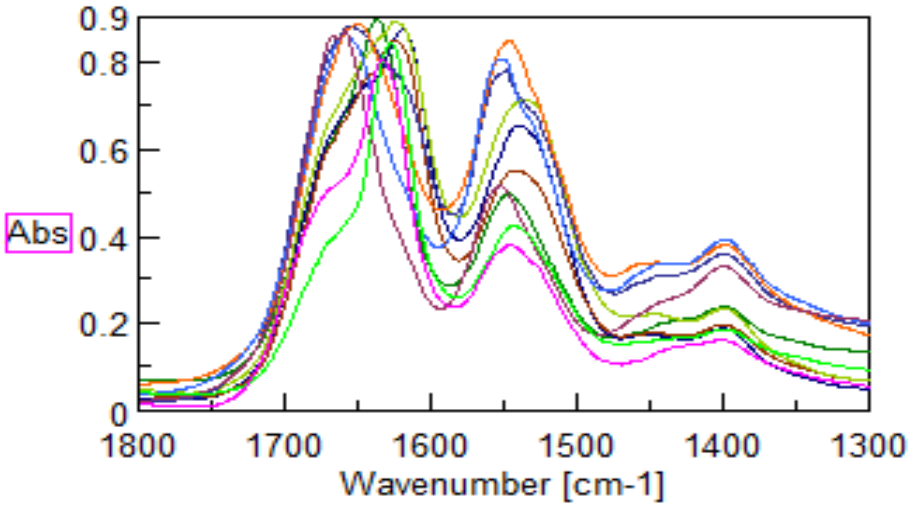
No irradiation



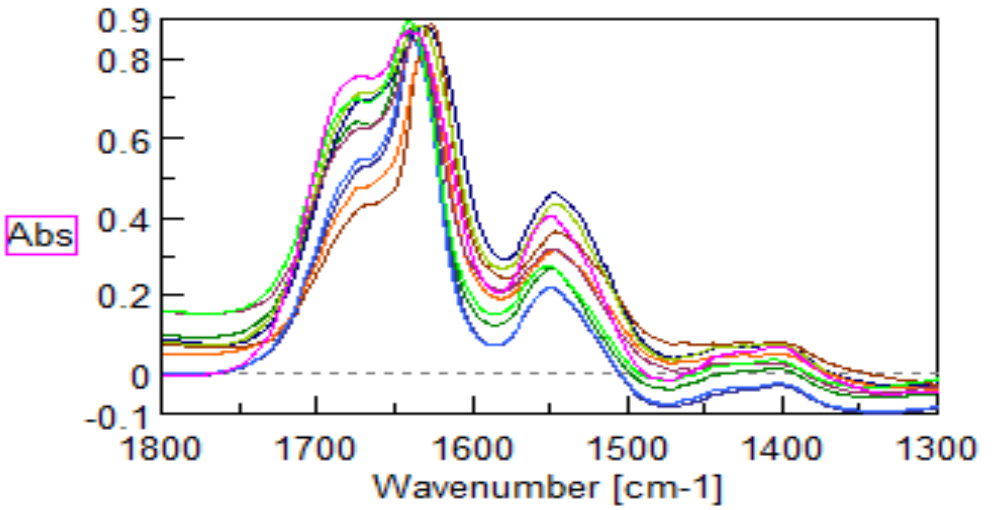
After irradiation at 5.0 μm

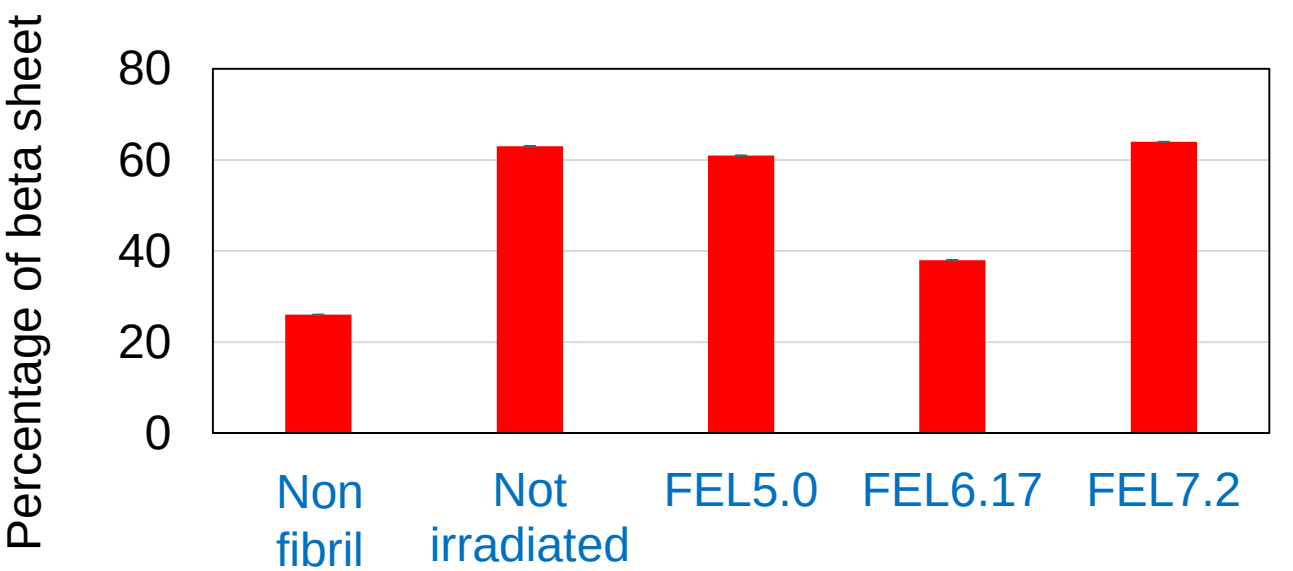


After irradiation at 6.17 μm



After irradiation at 7.19 μm





2014年

・*Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, **4**, 9-18.

・*American Journal of Analytical Chemistry*, **5**, 384-394. （甲状腺ペプチド）

・*Lasers in Medical Science*, **29**, 1701-1707. （インスリン）

2015年

・*日本レーザー医学会誌* **36**(2), 119-122. （依頼総説）

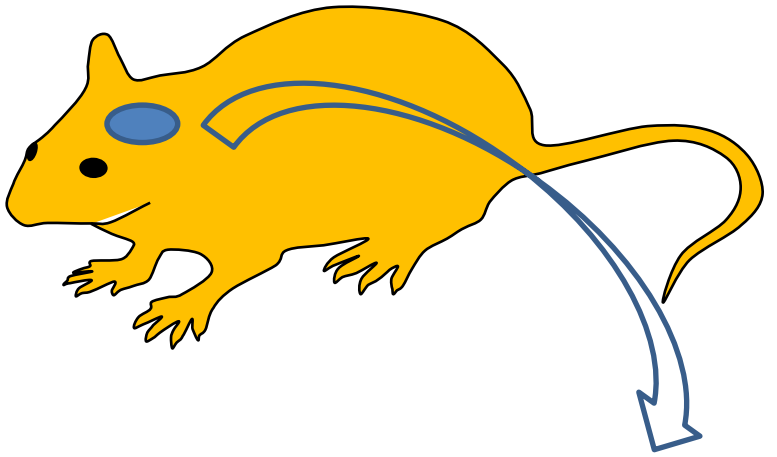
2016年

・*J. Synchrotron Radiation*, **23**, 152-157. （ケラチン）

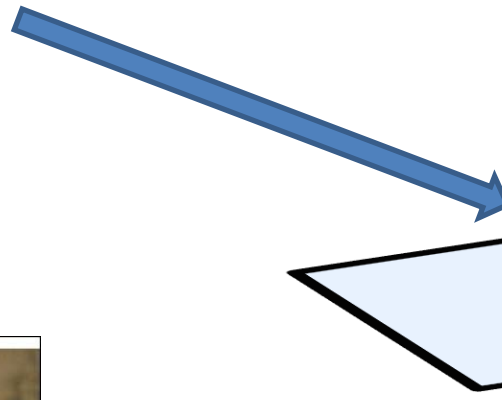
国際会議

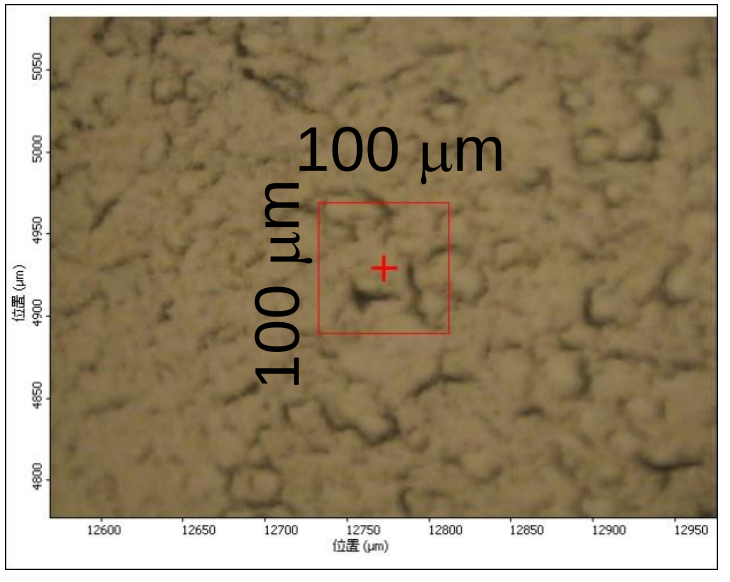
・4th Asia-Pacific International Peptide Symposium　2013年 poster
・BIT’s 3rd Annual Conference and EXPO of AnalytiX-2014　2014年　Invited Speaker
・The 7th Intentional Symposium of Advanced Energy Science 2016年　Invited Speaker

アルツハイマー病モデルマウスへの適用
by 中村和裕 教授 (群馬大学)



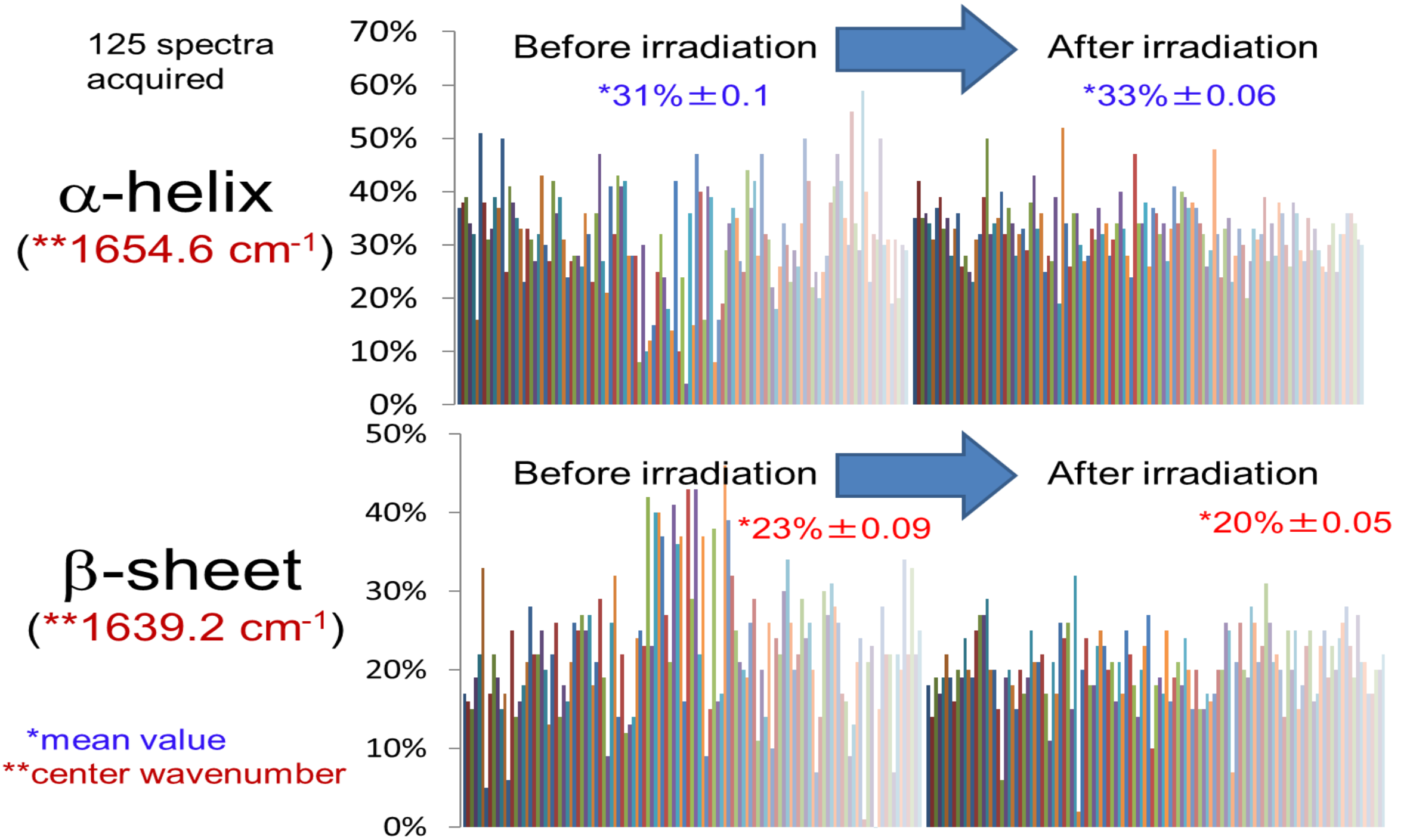
大脳皮質 section
thickness : 20 μm





放射光赤外顕微鏡観察:
SR-IR Microscopy BL15 at
立命館大学SRセンター

20 x 20 μm aperture,
lattice: 25, total 5 regions, 5 mice

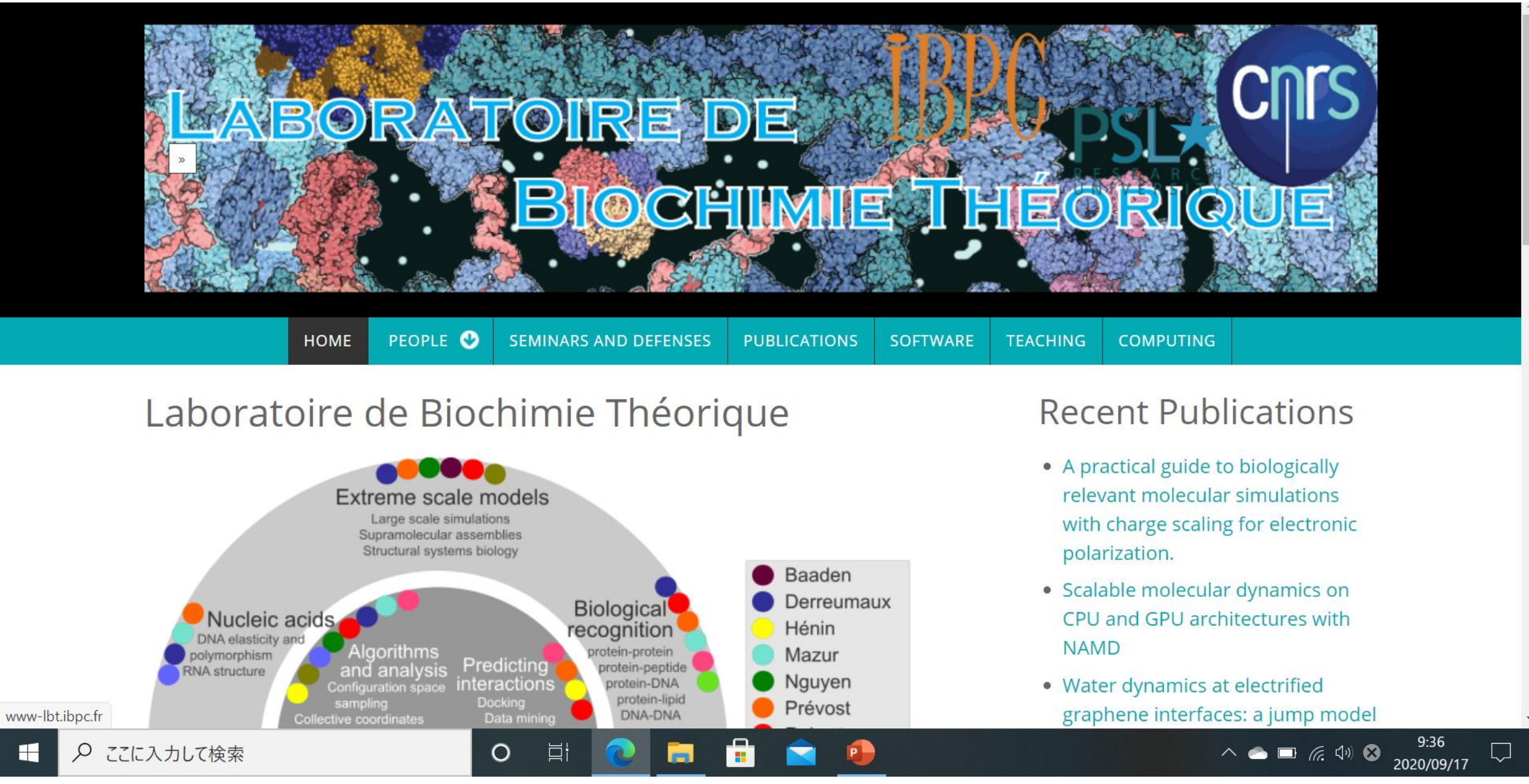


Kawasaki, T., Yaji, T., Ohta, T., Tsukiyama, K., and Nakamura, K.
Cell. Mol. Neurobiol. **38**: 1039-1049 (2018)

中村教授との共著論文

- *Lasers in Medical Science*, 31, 1425-1431 (**2016**).
- *Electronic Journal of Biology*, 12(4), 363-366 (**2016**).
- *Biomedical Research and Clinical Practice*, 2(1), 1-4 (**2017**).
- *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38, 1039-1049 (**2018**).
- *Neurosci. Lett*., 685, 42-49 (**2018**)

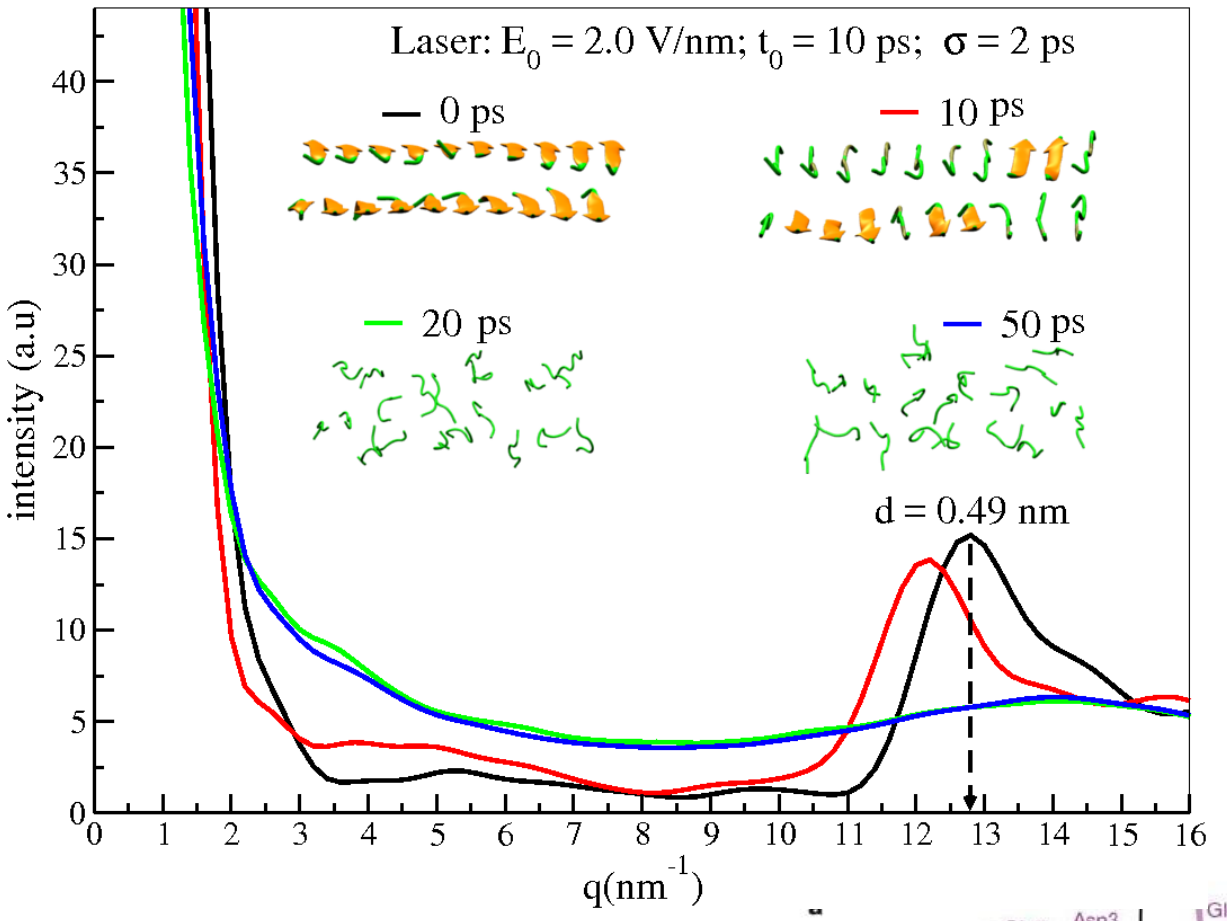
Dr. Phuong H. Nguyen （計算生物ラボ at パリ大学, フランス国立科学研究センター）との共同研究



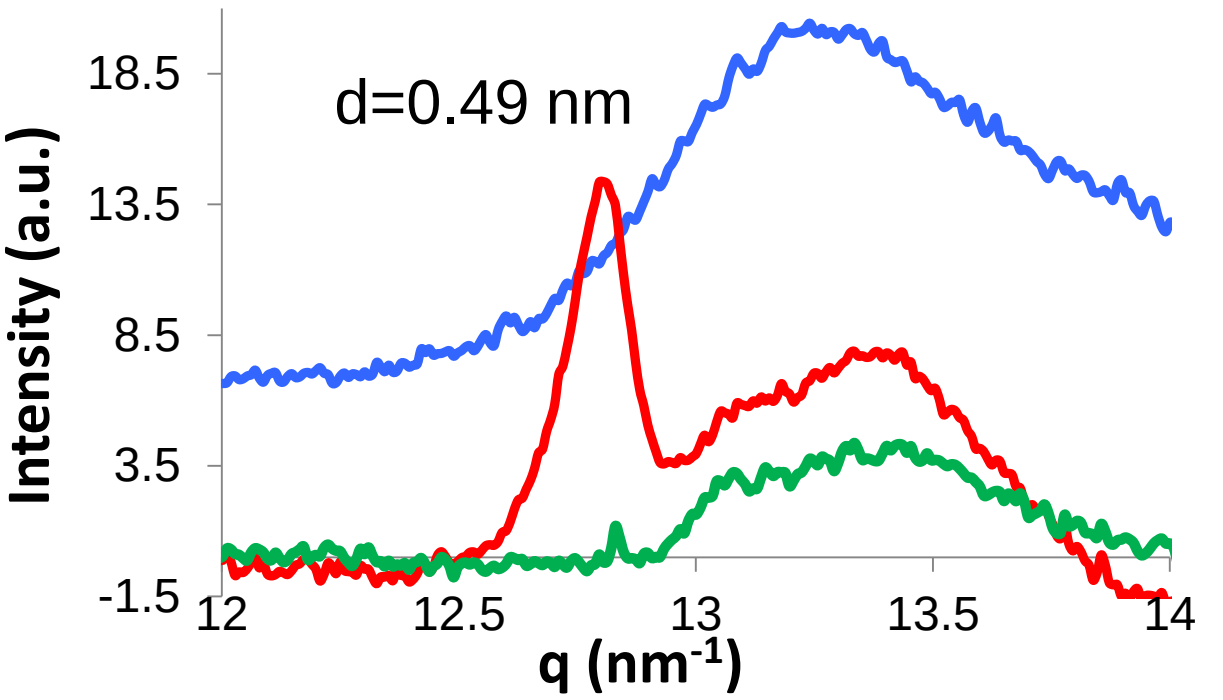
“Infrared Laser-Induced Amyloid Fibril Dissociation:
A Joint Experimental/Theoretical Study on the GNNQQNY Peptide”

J. Phys. Chem. B, 124(29), 6266-6277 (**2020**).

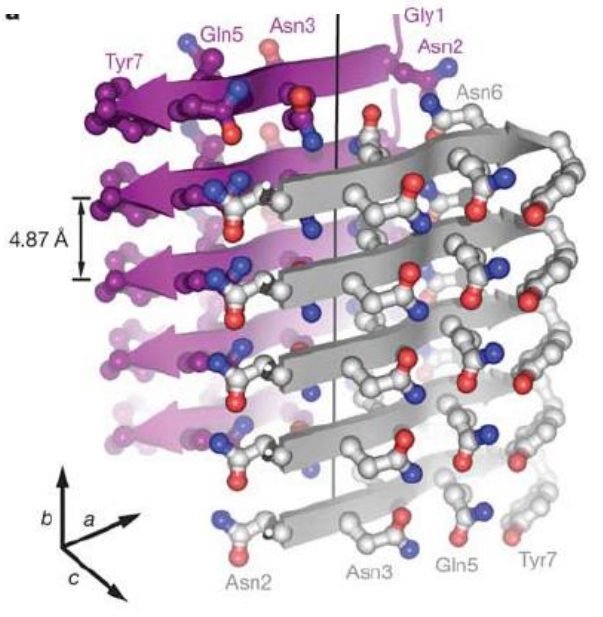
理論計算



実験



酵母菌のアミロイド線維



X-ray Scattering analysis
at *あいちシンクロトロン光センター*

- Pre-Fibril
- Fibril
- Irradiation at 6 um

プレスリリース

東京理科大学
TOKYO UNIVERSITY OF SCIENCE

2020.08.05 Wednesday

赤外レーザーの照射によるアミロイドタンパク質凝集体の解離機構を解明
～実験と理論計算の融合により難病の治療法開発に新たな光を灯す～

ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

Search text, DOI, authors, etc.

My Activity Publications

COVID-19 Remote Access Support: Learn More about expanded access to ACS Publications research.

RETURN TO ISSUE < PREV **B: BIOPHYSICS; PHYSI...** NEXT >

Infrared Laser-Induced Amyloid Fibril Dissociation: A Joint Experimental/Theoretical Study on the GNNQQNY Peptide

Takayasu Kawasaki*, Viet Hoang Man, Yasunobu Sugimoto, Nobuyuki Sugiyama, Hiroko Yamamoto, Koichi Tsukiyama, Junmei Wang, Philippe Derreumaux*, and Phuong H. Nguyen*

Cite this: *J. Phys. Chem. B* 2020, 124, 29, 6266–6277
Publication Date: June 19, 2020
https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.0c05385
Copyright © 2020 American Chemical Society
RIGHTS & PERMISSIONS Subscribed

Article Views 266 | Altmetric 119 | Citations 1
LEARN ABOUT THESE METRICS

Share Add to Export RIS

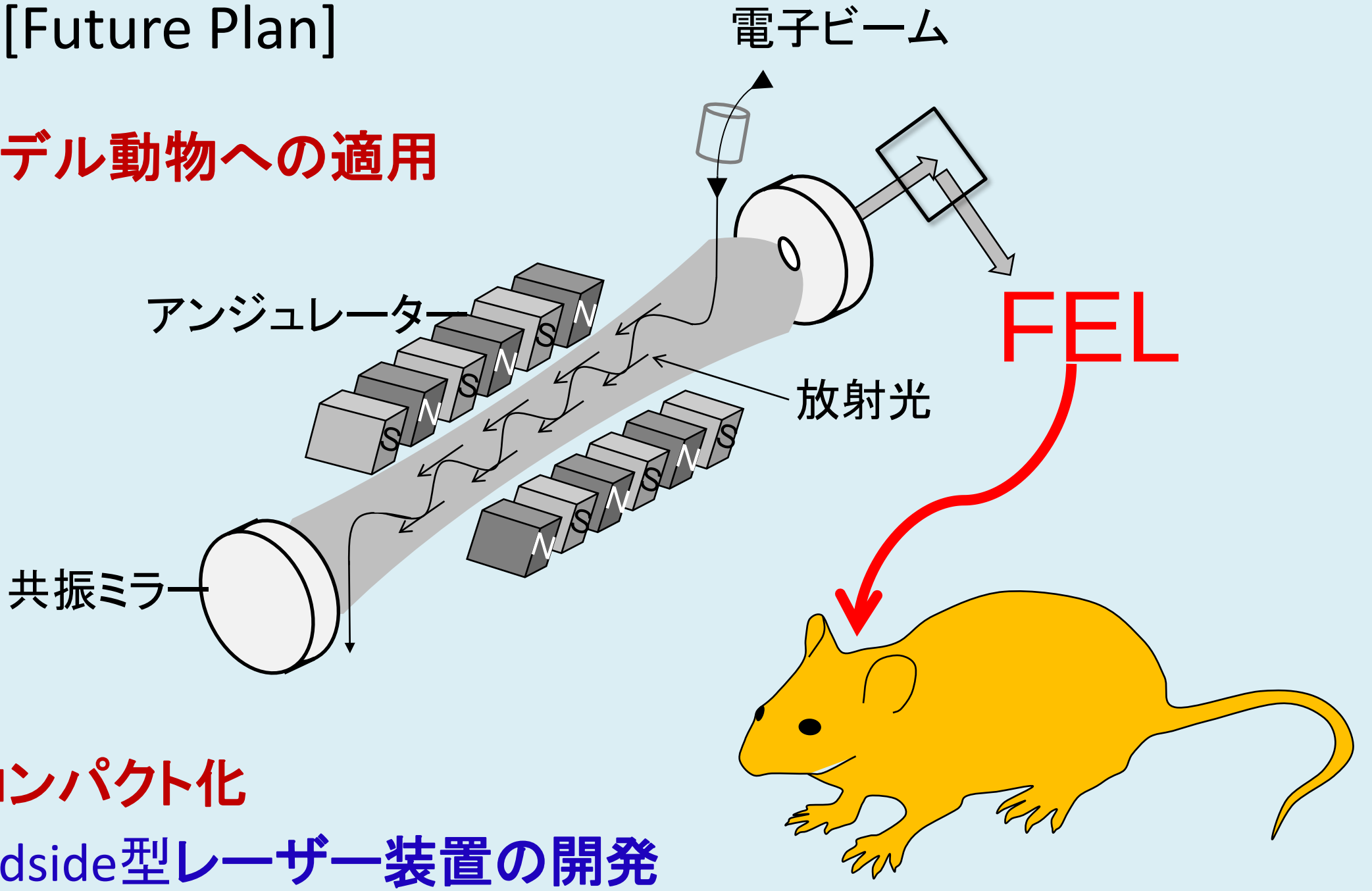
The Journal of Physical Chemistry B

PDF (6 MB)

SUBJECTS: Nanofibers, Dissociation, Peptides and proteins, Irradiation, Lasers

[Future Plan]

①モデル動物への適用



②コンパクト化

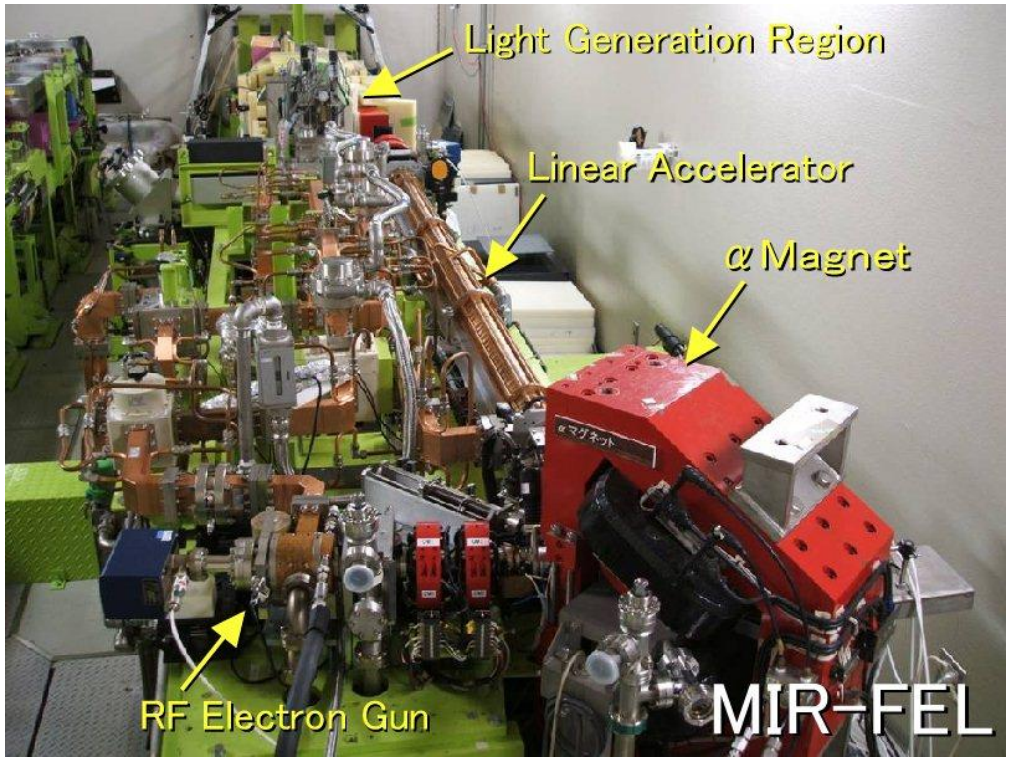
Bedside型**レーザー装置の開発**

KEKで是非実現を！

ラボラトリーレベル

疾患原因物質対する
照射条件のスクリーニング
波長　パワー強度　照射時間

FEL System



レーザー機器メーカの
技術協力

産学連携による
イノベーション創出

ベッドサイド型装置に
照射条件を導入する
ファイバー型
内視鏡との連結

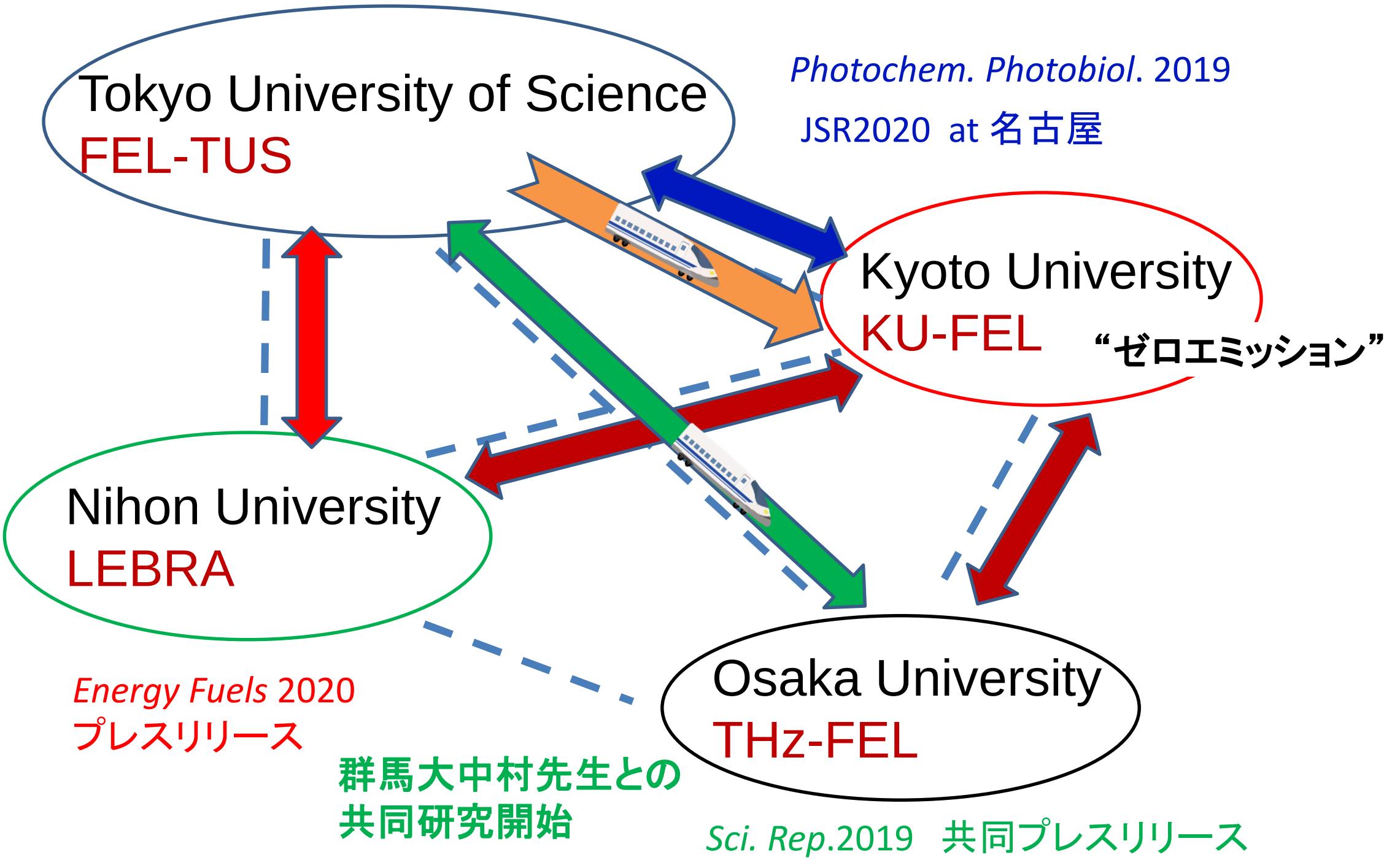
臨床応用
ヒトへの治療方法の開発

光ビームプラットフォーム

光ビームプラットフォームは、文部科学省先端研究基盤共用促進事業に基づいて形成された、放射光施設と大型レーザー施設の共用を促進するネットワークです。

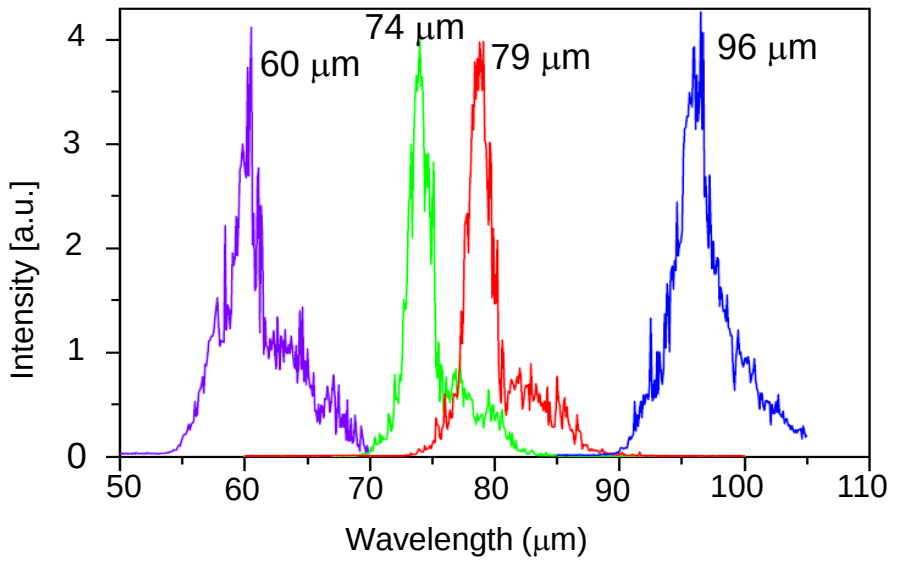
JSR 2019 at Fukuoka
第24回FEL研究会 at Kyoto
2018/2/15-16

FEL Network in Japan

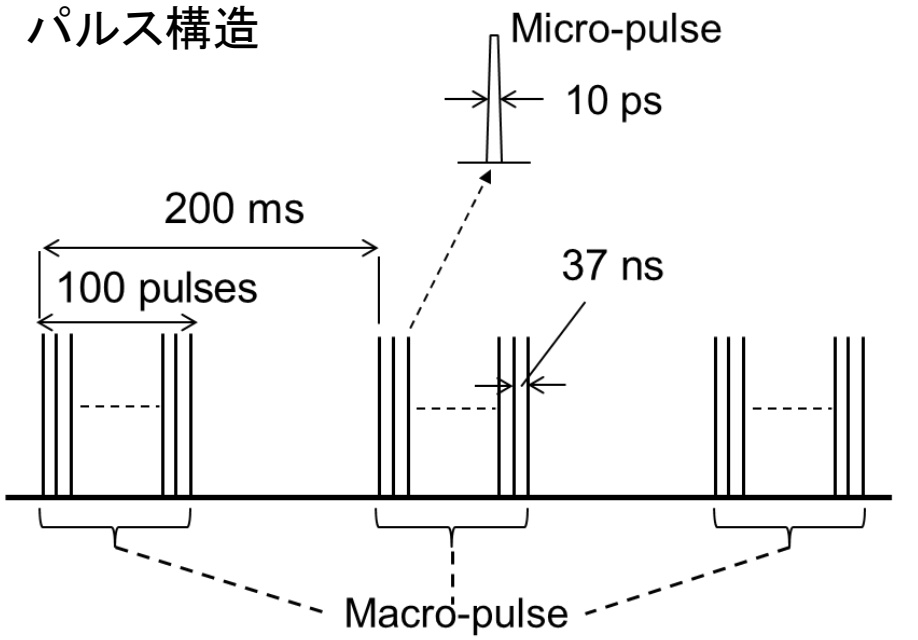


阪大産研THz-FELとの共同研究

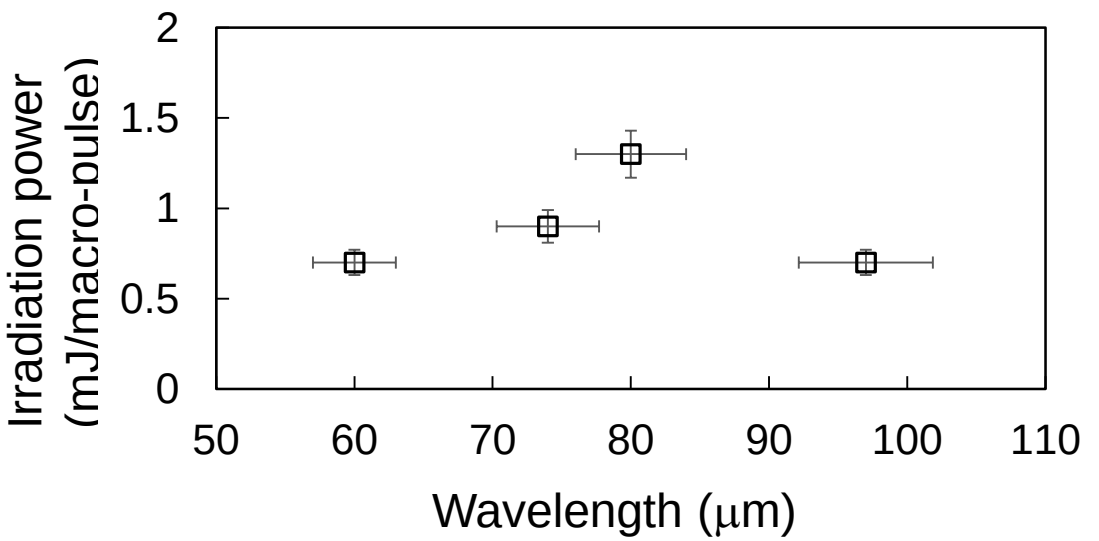
各波長のFELスペクトル



パルス構造

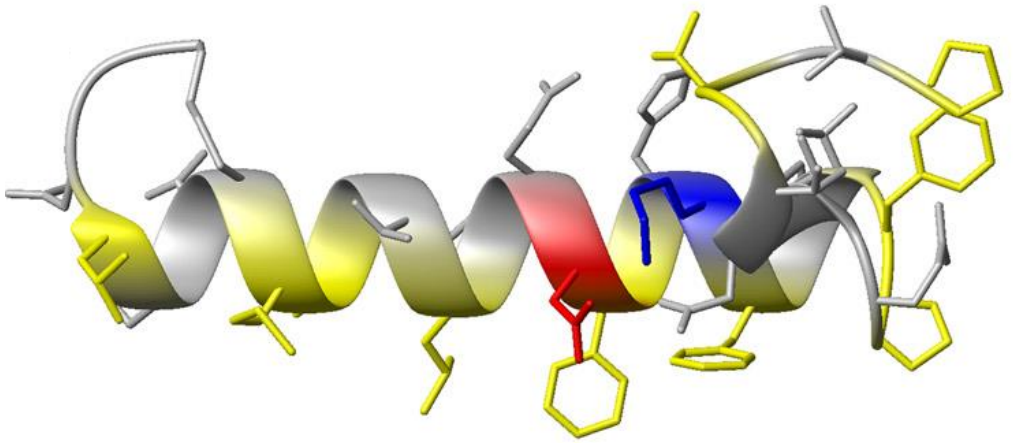


パワー強度



「アミロイド線維の分解」

Thyroid hormone: Calcitonin ; involved in calcium homeostasis
; used for treatment of osteoporosis



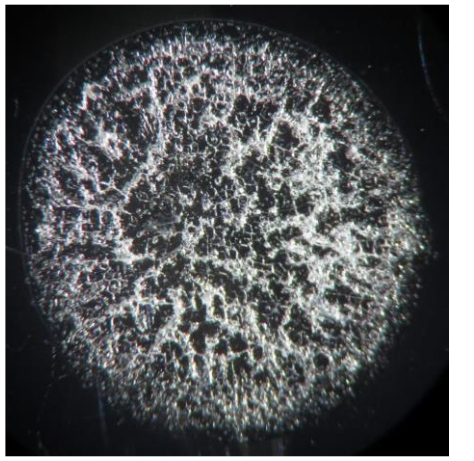
1-Cys-Gly-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Met-Leu-Gly-Thr-
Tyr-Thr-Gln-**Asp-Phe-Asn-Lys-Phe**-His-Thr-Phe-
Pro-Gln-Thr-Ala-Ile-Gly-Val-Gly-Ala-Pro-32

However,

Internal peptide
(Asp-Phe-Asn-Lys-Phe)
is easy to form fibrils

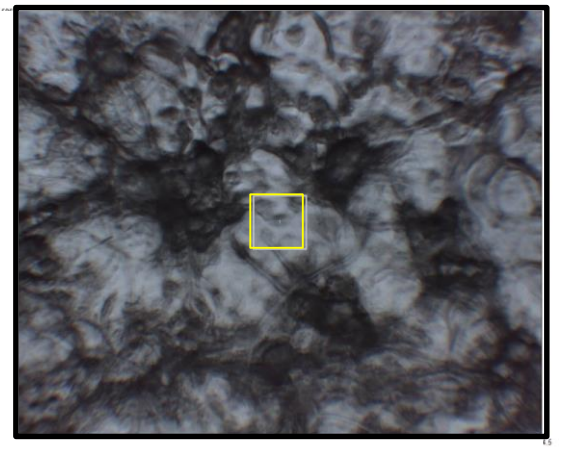
→ Medullary carcinoma of the thyroid

1-Cys-Gly-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Met-Leu-Gly-Thr-Tyr-Thr-Gln-**Asp-Phe-Asn-Lys-Phe**-His-Thr-Phe-Pro-Gln-Thr-Ala-Ile-Gly-Val-Gly-Ala-Pro-32

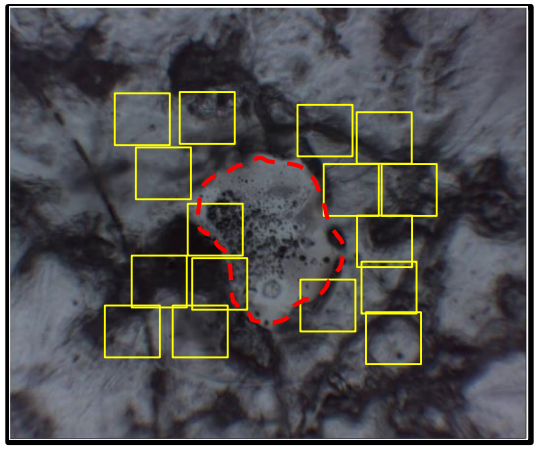


5 mm

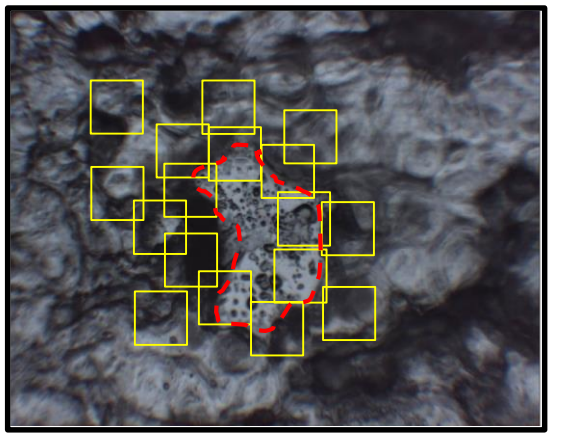
Non-irradiation



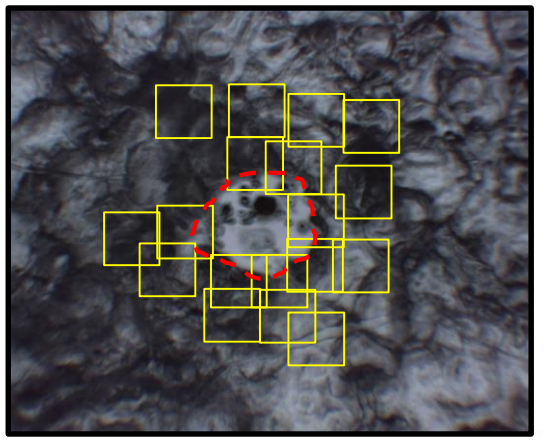
After irradiation at 60 μm



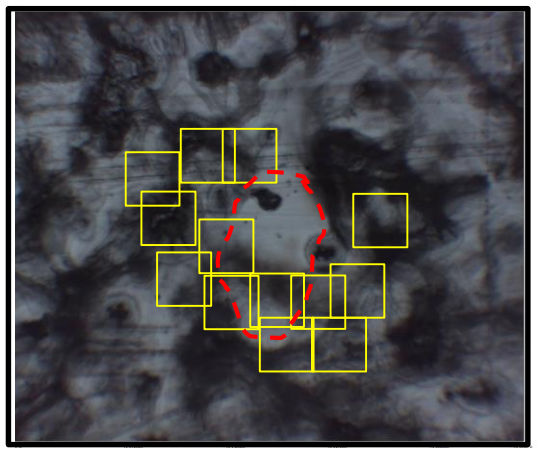
After irradiation at 74 μm



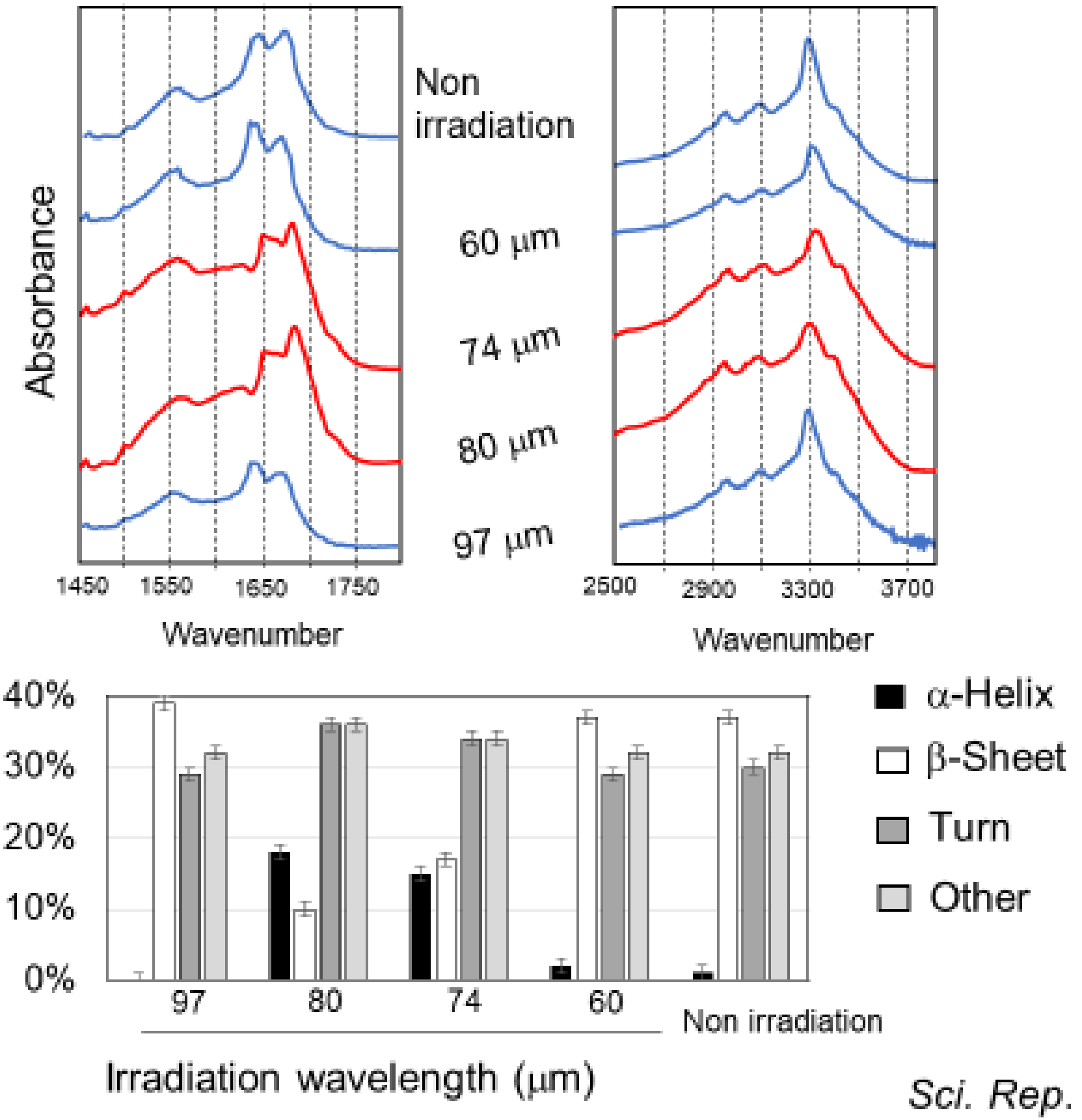
After irradiation at 80 μm



After irradiation at 97 μm

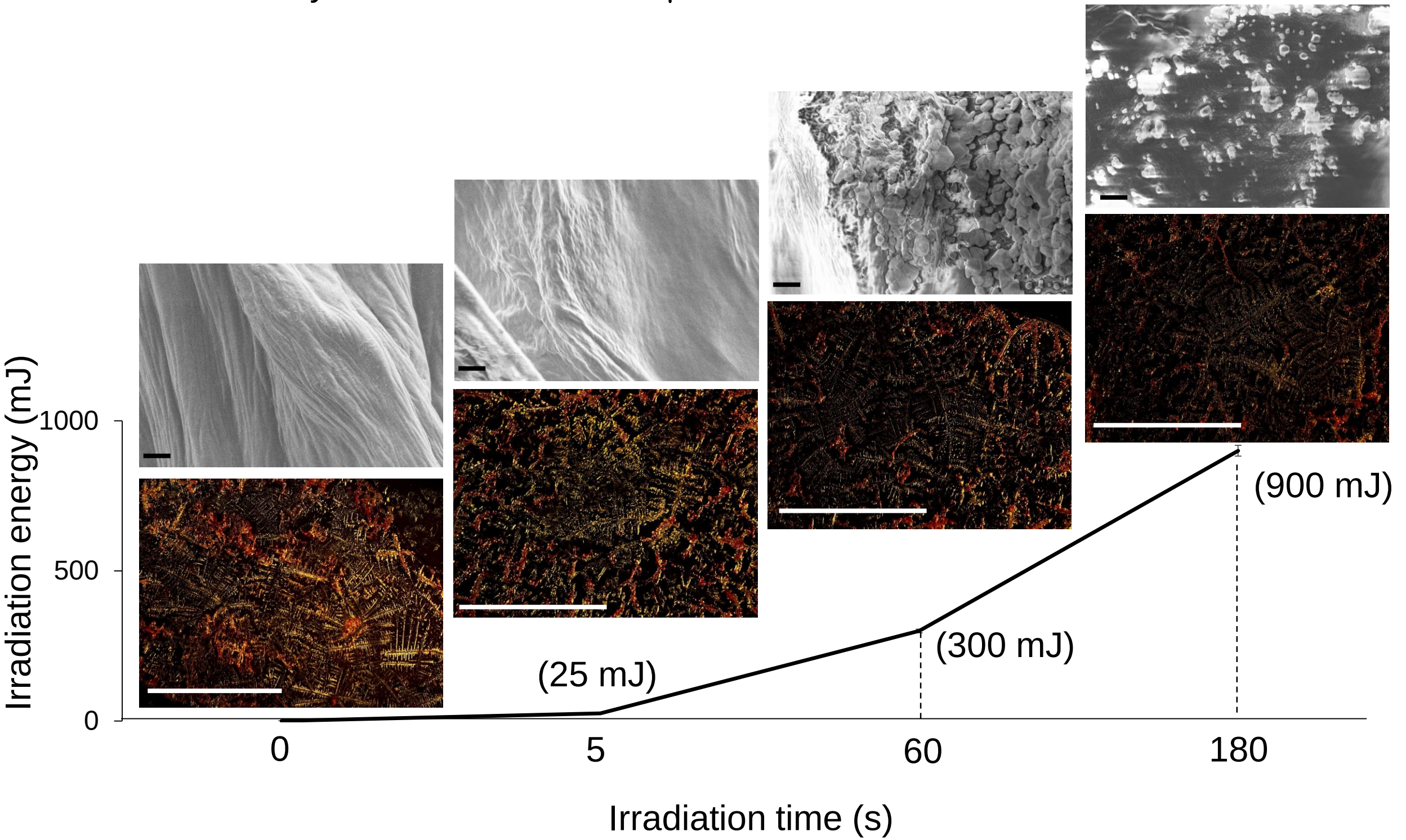


1 mm



Sci. Rep. (2019) **9**:10636

Irradiation by FIR-FEL tuned to 74 μm



Sci. Rep. (2019) **9**:10636

科研費　基盤研究(C)

令和２～４年度　　２０Ｋ１２４８３

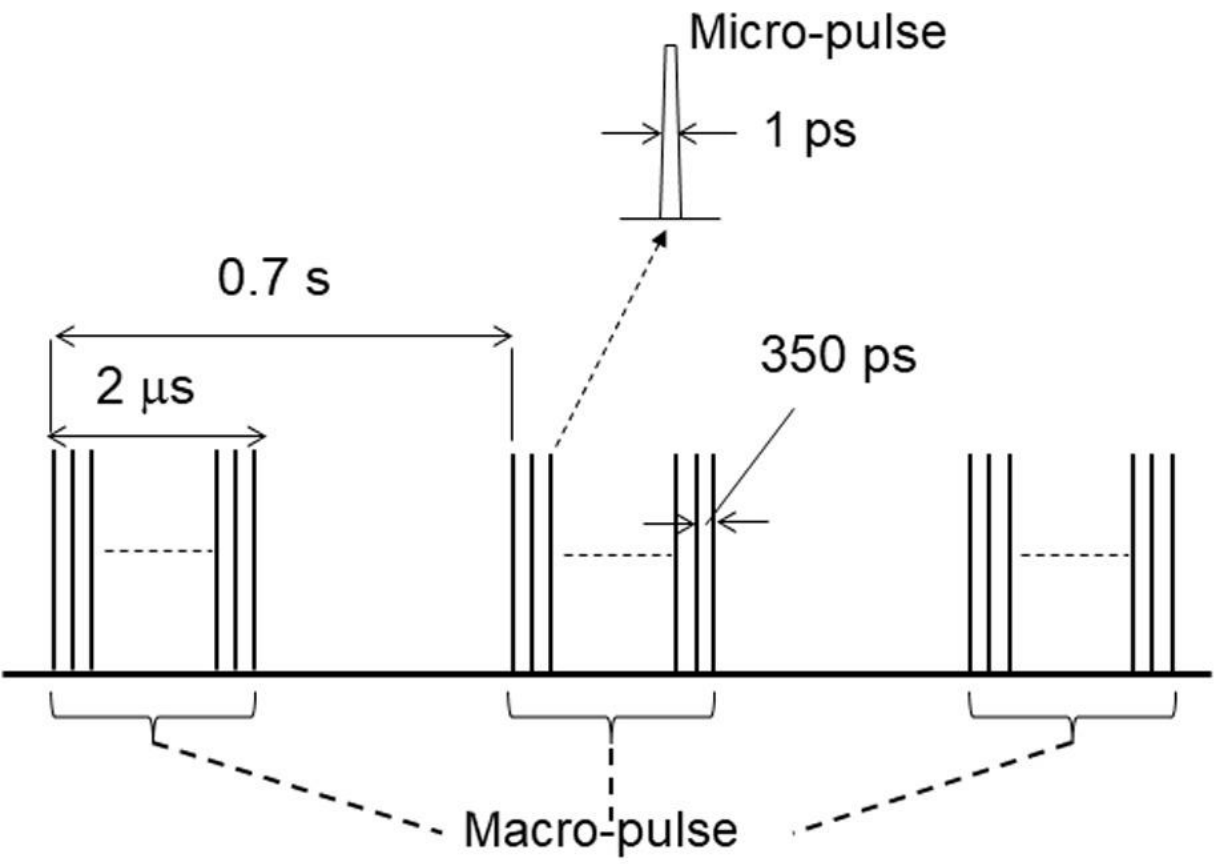
「アミロイド線維に対するテラヘルツ自由電子レーザーの照射効果に関する研究」

共同研究者:

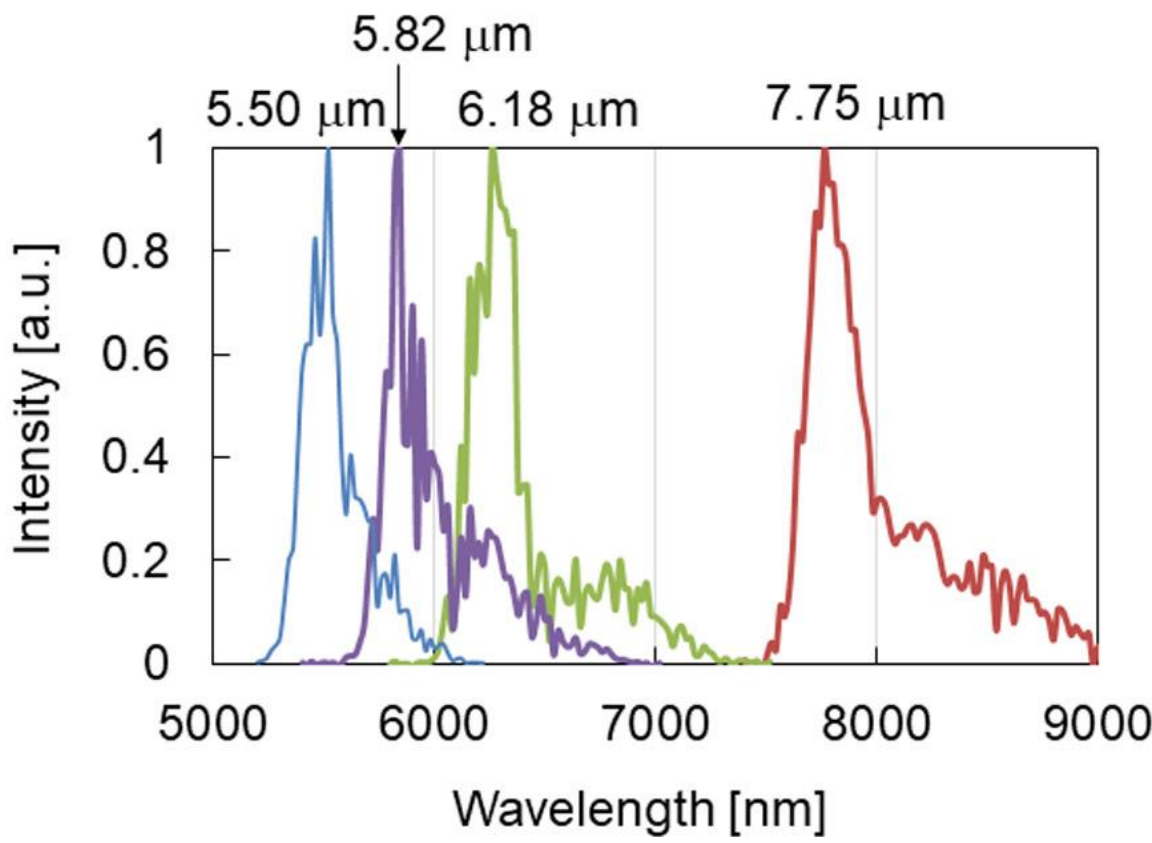
入澤明典（阪大産研）、中村和裕（群馬大）

京都大学KU-FELとの共同研究

パルス構造



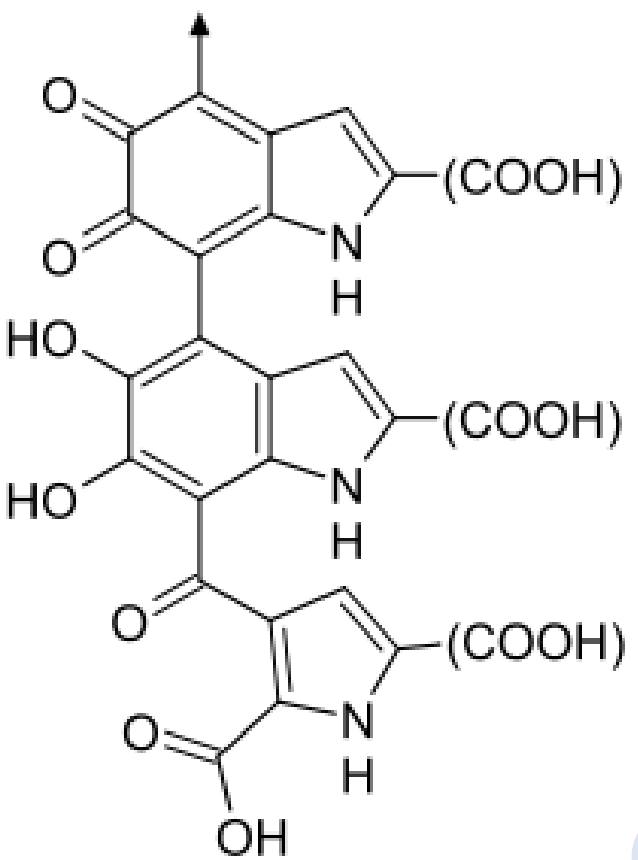
発振波長



京都大学KU-FELとの共同研究

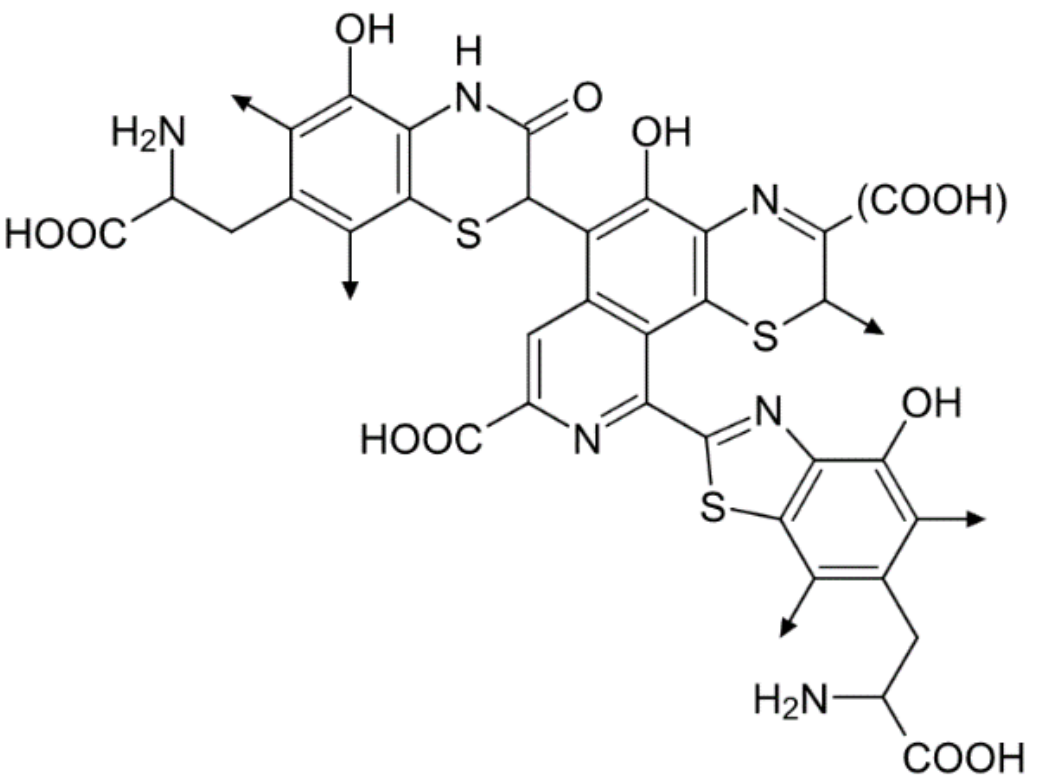
「皮膚メラニンに対する中赤外FELの照射効果」

皮膚の色素成分であるメラニンは、ヘテロ環を含む強固な立体構造を形成する。
痣やしみなどメラノーシスや皮膚癌のメラノーマを引き起こす。



真性メラニン
(Eumelanin)
黒褐色
MW = ca.550 Da

生体内では混合物として存在する。

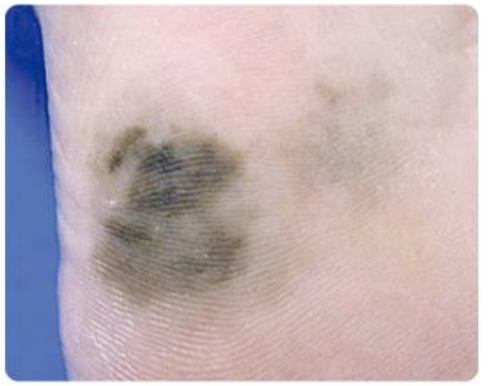


亜メラニン
(Pheomelanin)
橙赤色
MW = ca.657 Da

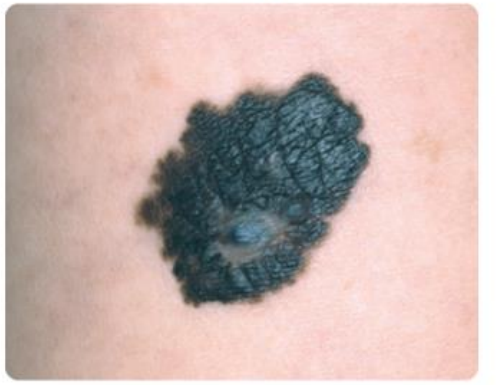
現在のところ、メラノーシスの治療には、波長700-1000 nmの可視光レーザーを用いる除去方法が知られているが、完治しないケースが多々ある。

☞効果的な代替治療法の開発が望まれる。

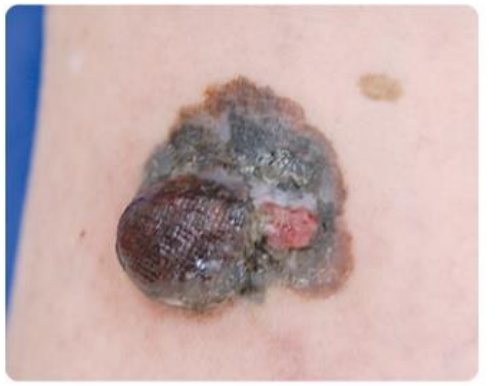
A　非対称性の病変



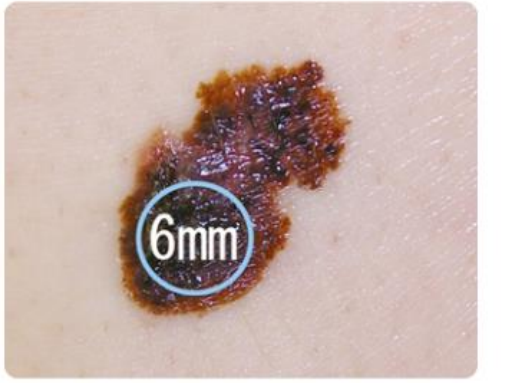
B　不規則な外形



C　多彩な色調

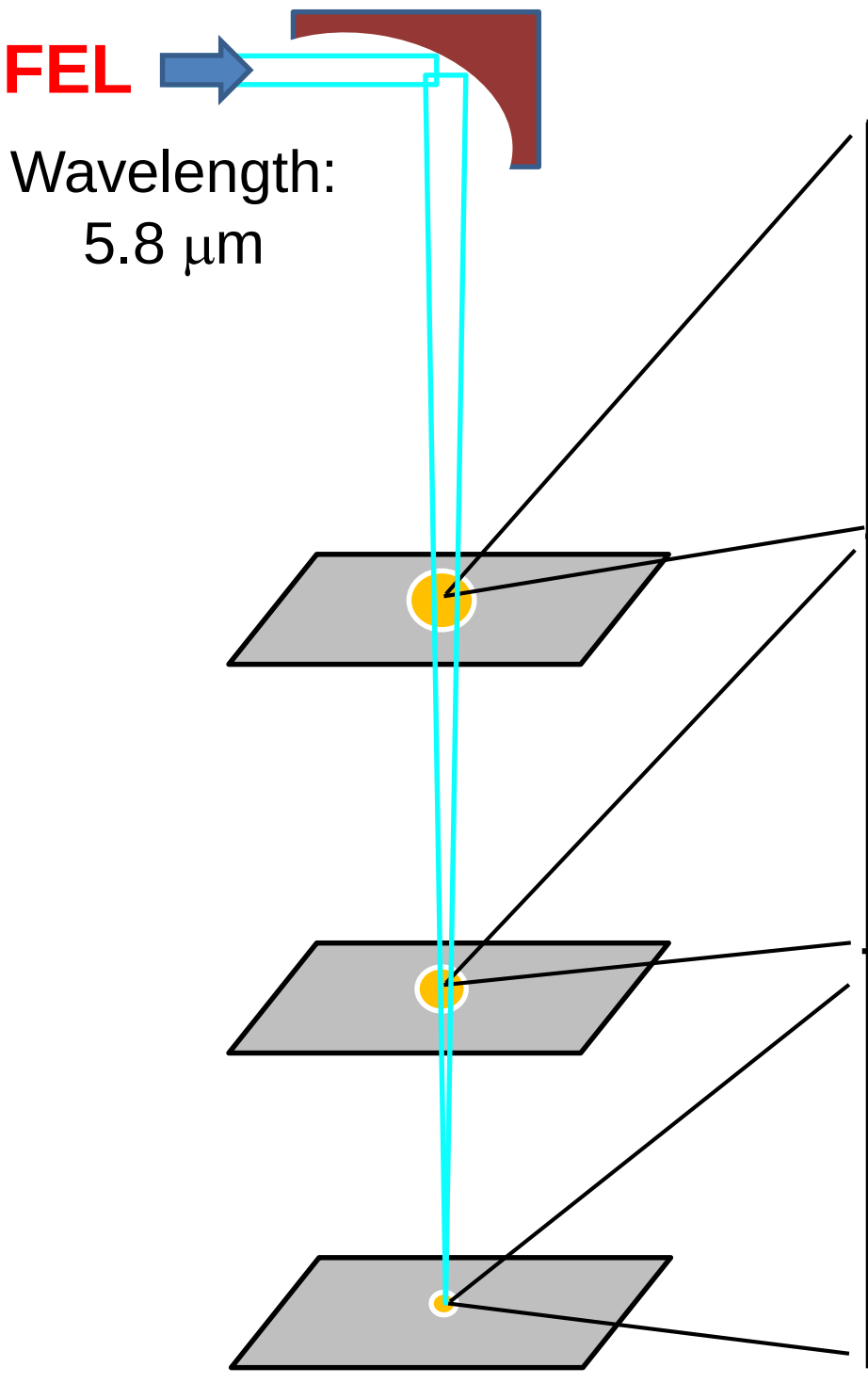


D　大型の病変



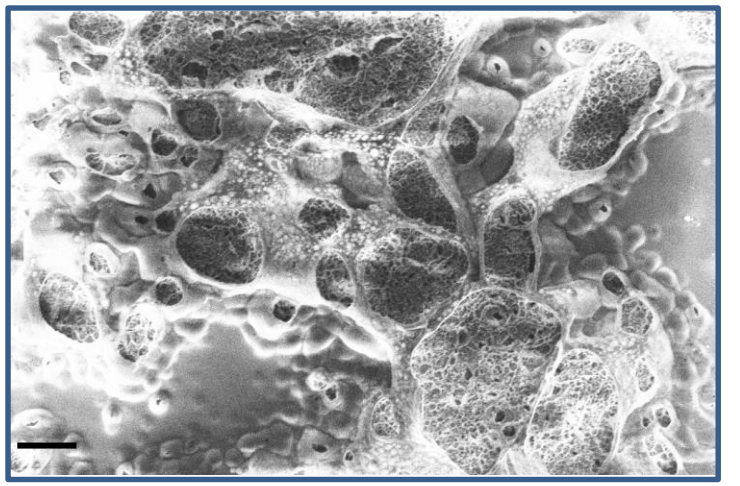
メラニンをFELによって選択的に分解し、メラノーシスに対する新規なレーザー治療技術を開発する。

メラニン



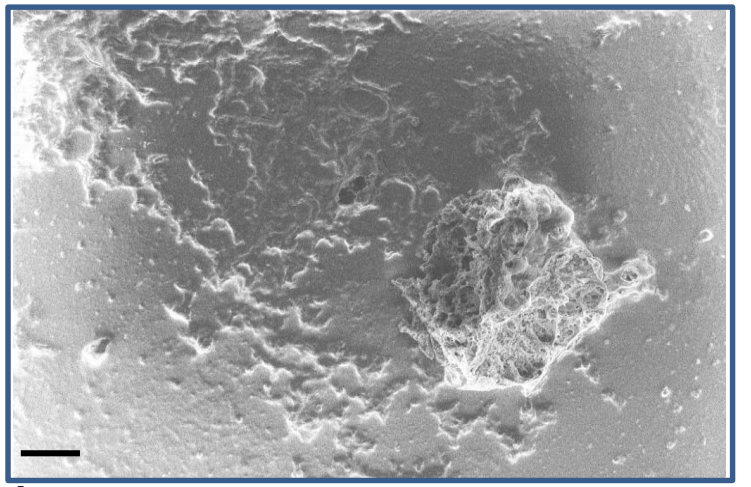
Non-irradiation	Beam diameter (mm)	Power density (mJ/cm^2)
	2	500
	1	2000
	0.5	8000

Non-irradiation

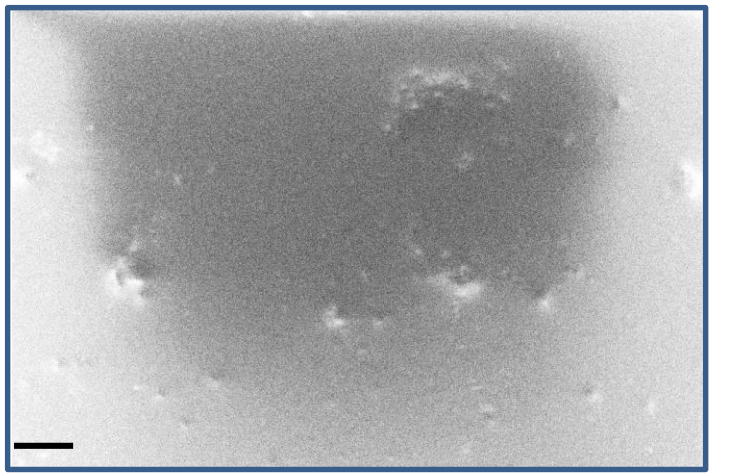


2 shots of macro-pulse

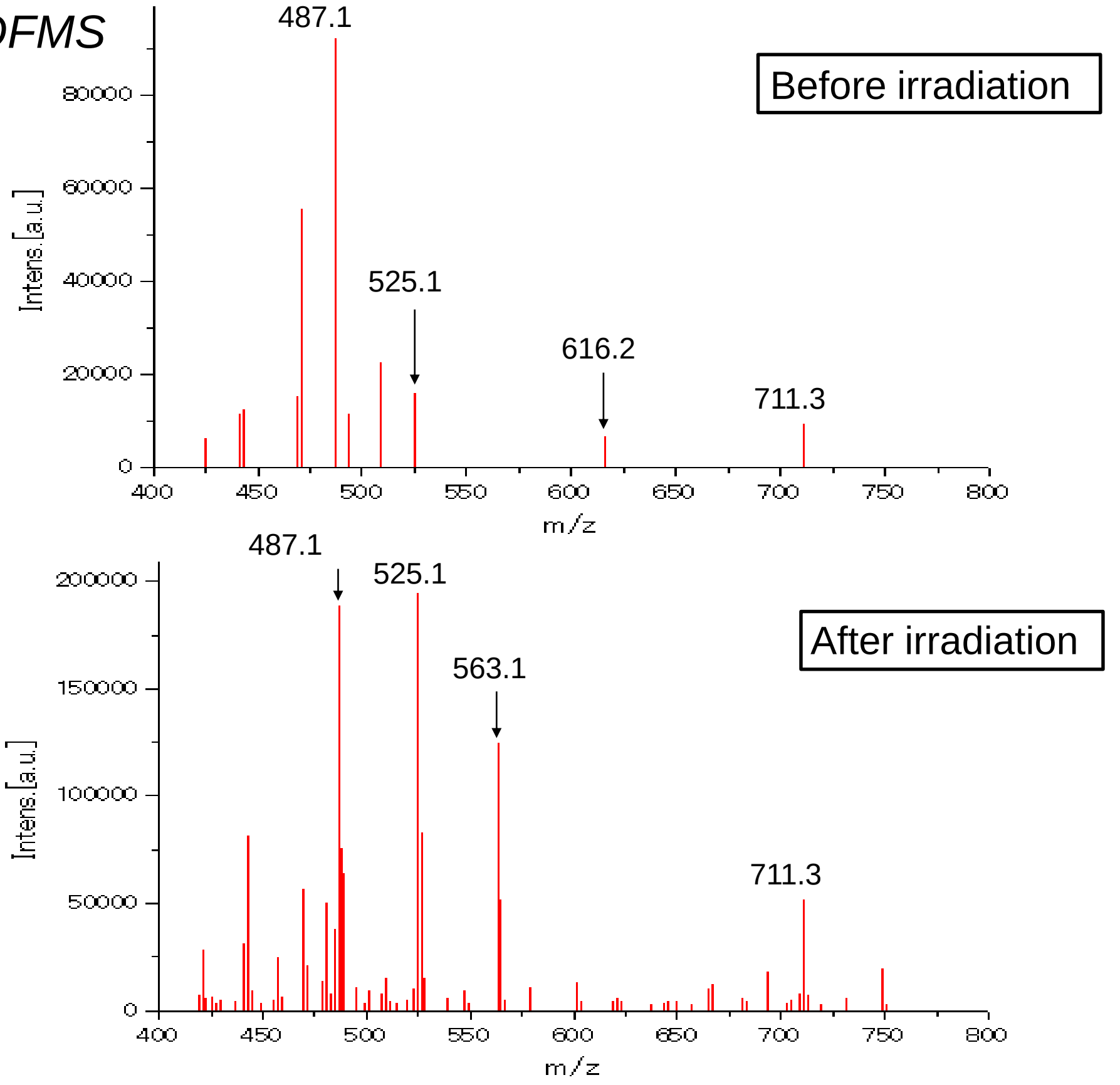
10 shots of macro-pulse



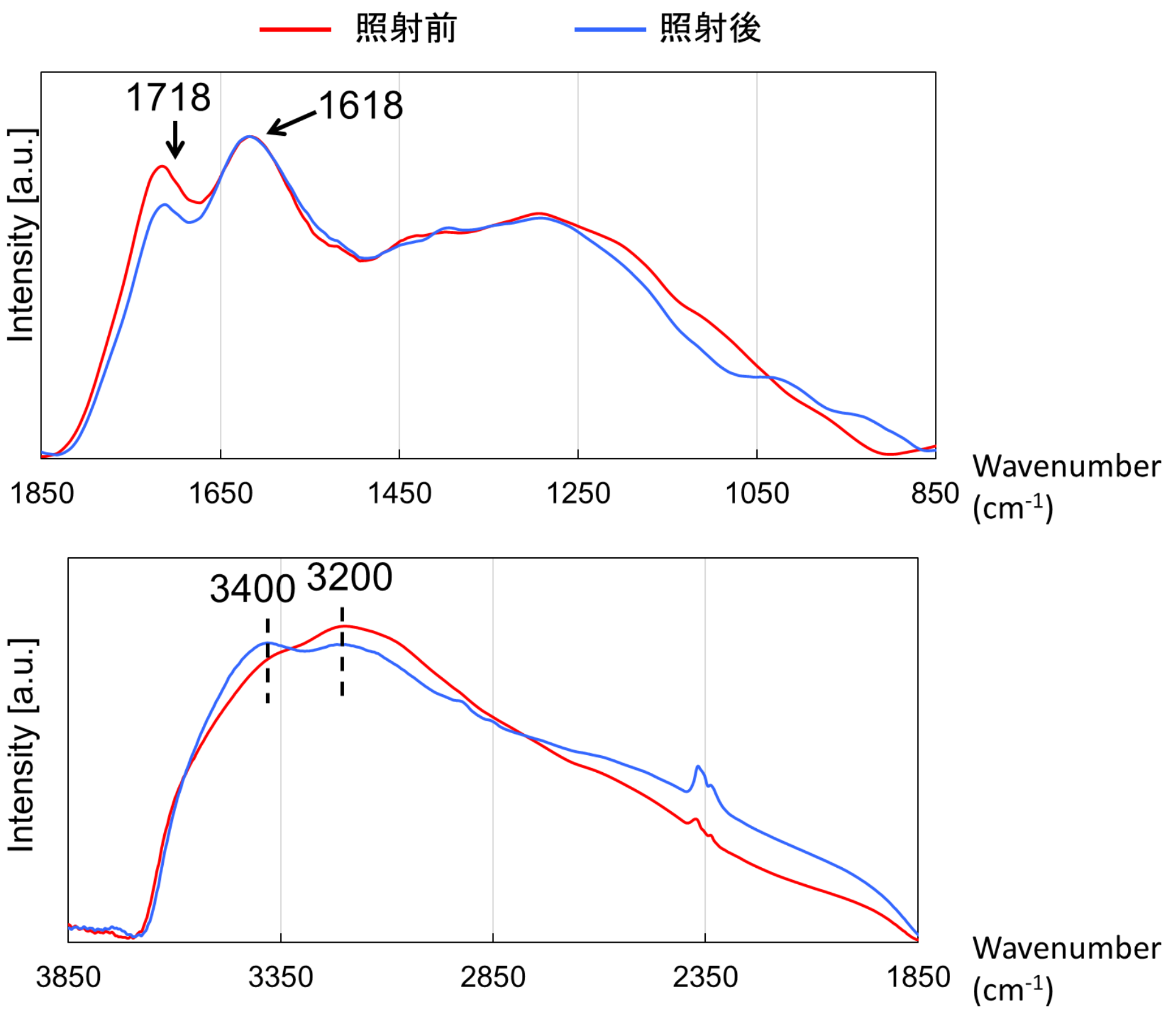
1 μm

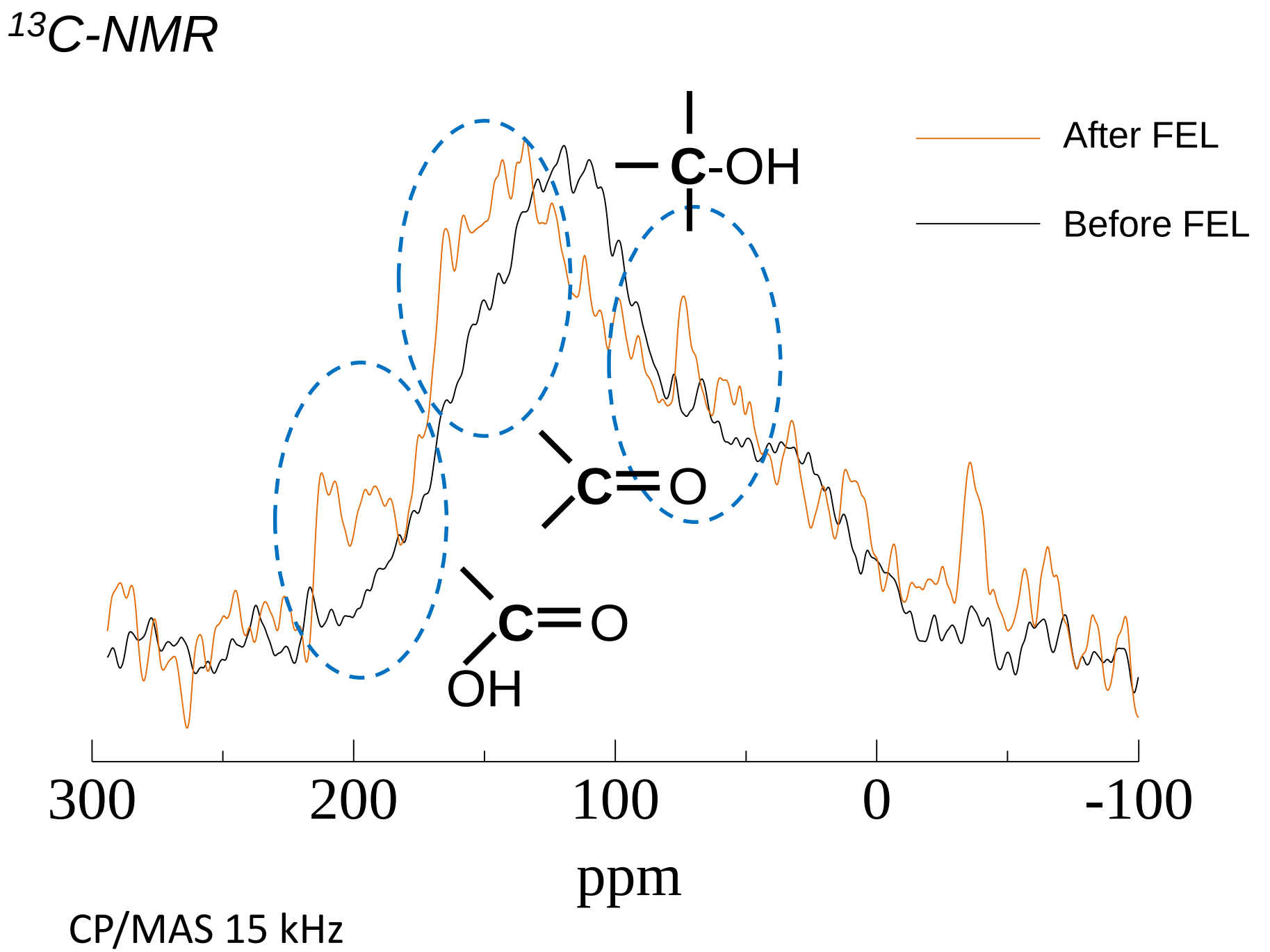


MALDI-TOFMS

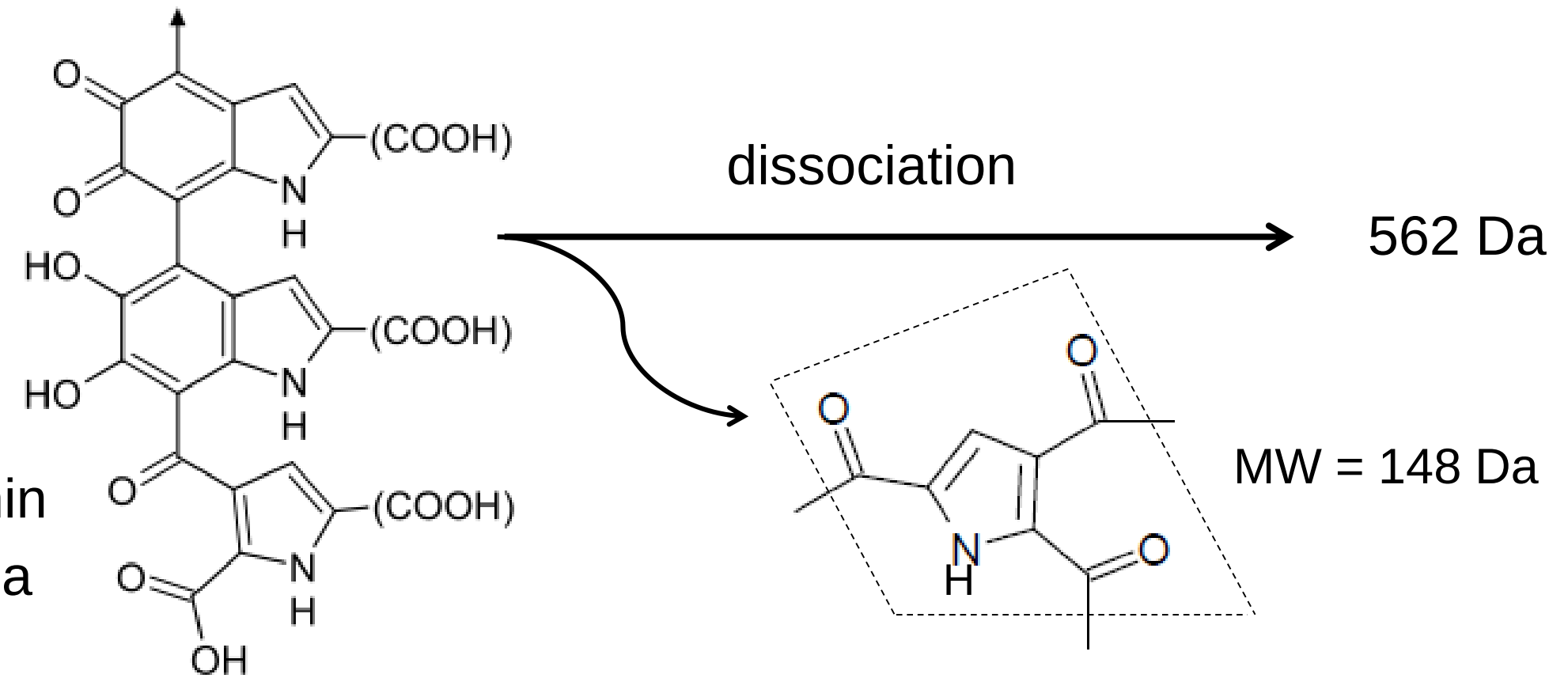

Before irradiation
487.1
525.1
616.2
711.3
Intens.[a.u.]
80000
60000
40000
20000
0
400
450
500
550
600
650
700
750
800
m/z
After irradiation
487.1
525.1
563.1
711.3
Intens.[a.u.]
200000
150000
100000
50000
0
400
450
500
550
600
650
700
750
800
m/z

FT-IR


照射前
照射後
1718
1618
Intensity [a.u.]
1850
1650
1450
1250
1050
850
Wavenumber
(cm-1)
3400
3200
Intensity [a.u.]
3850
3350
2850
2350
1850
Wavenumber
(cm-1)


^{13}C-NMR
C-OH
C=O
C=O
OH
After FEL
Before FEL
300
200
100
0
-100
ppm
CP/MAS 15 kHz

MIR-FELによるメラニンの構造改変



“Photo-Modification of Melanin by a Mid-Infrared Free-Electron Laser”,
Kawasaki T*, Sato A, Tominaga Y, Suzuki Y, Oyama T, Tadokoro M, Tsukiyama K, Nokihara K, Zen H.

Photochem. Photobiol. **95**, 946-950 (2019).

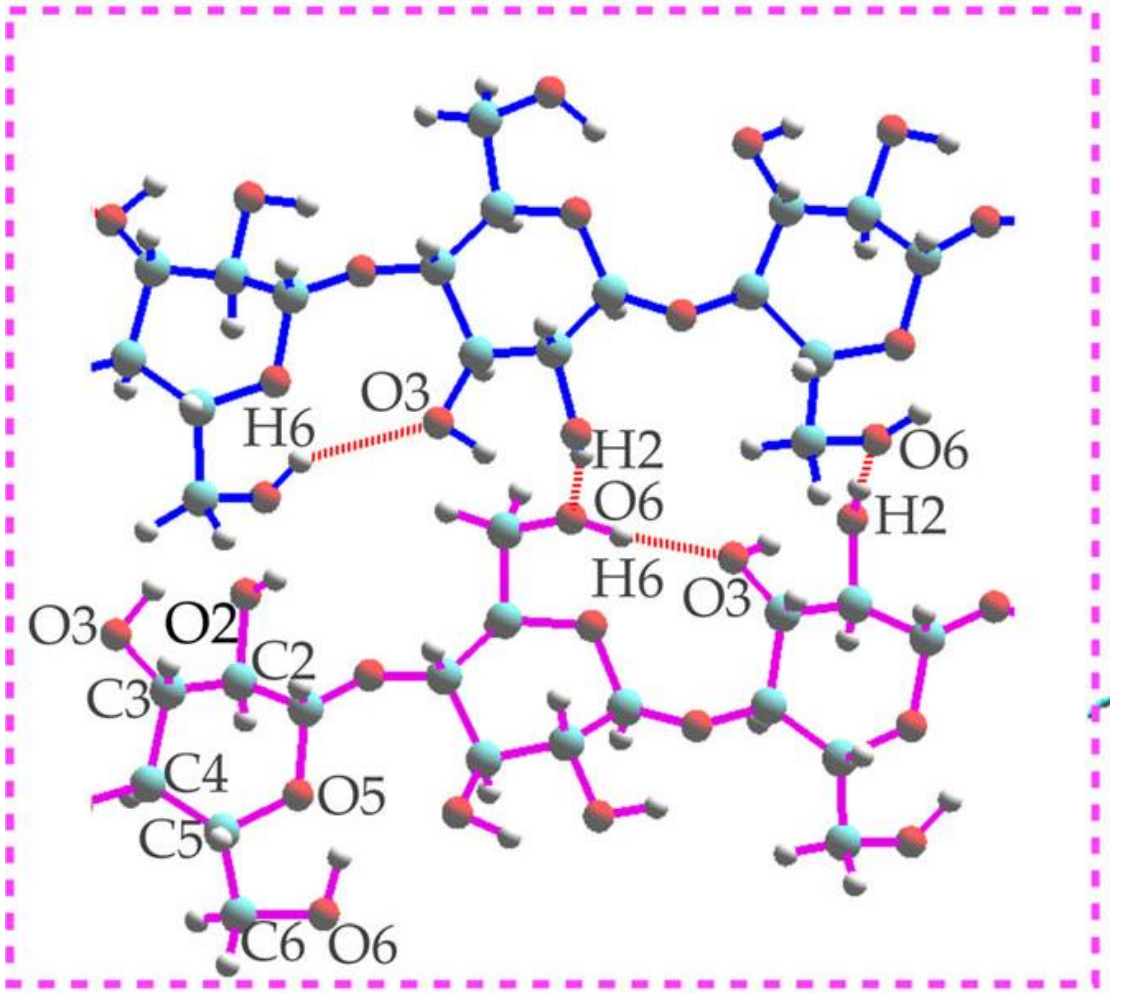
日本大学LEBRAとの共同研究

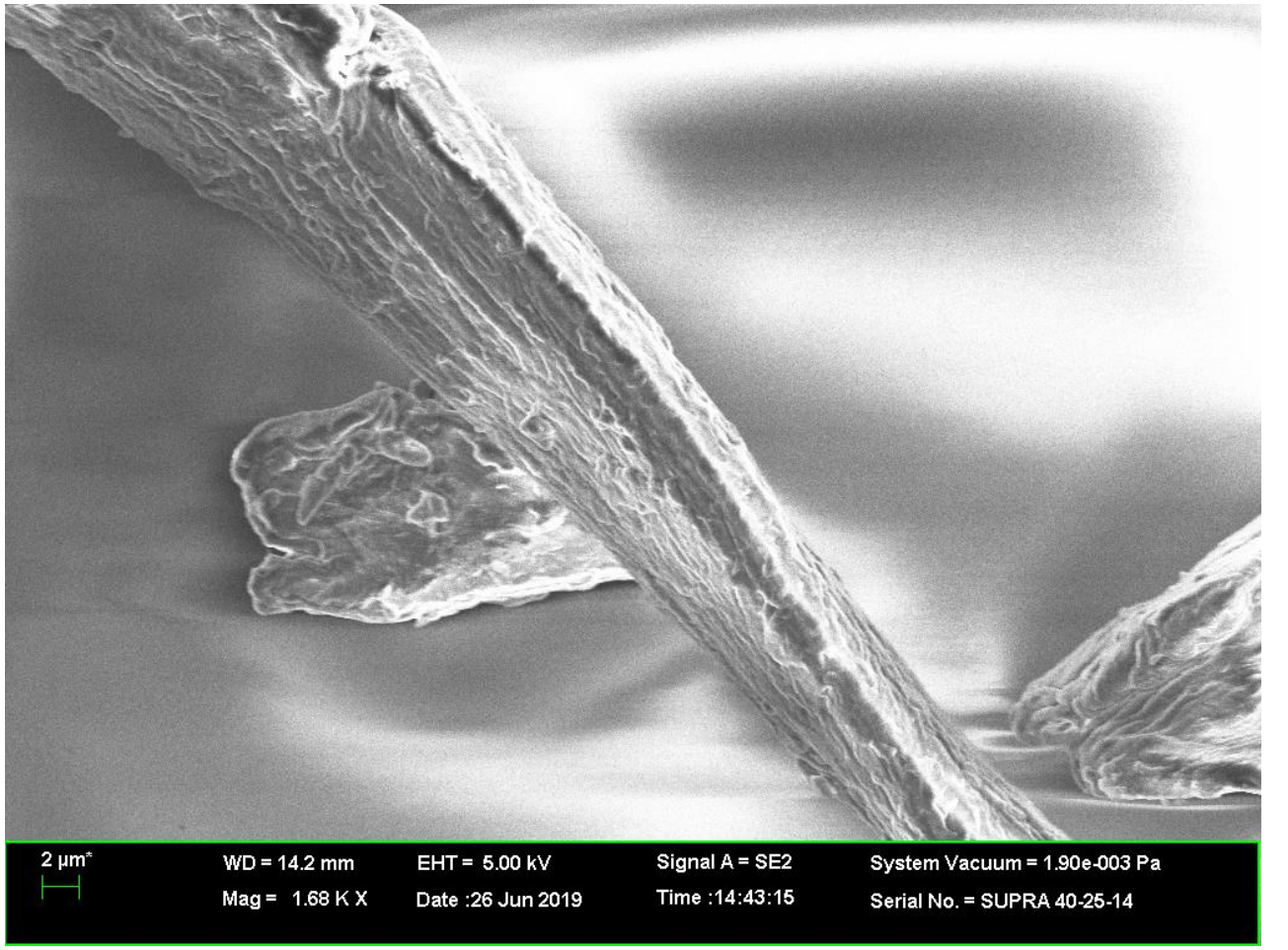
「セルロース」

- 地球上で最も多い炭水化物であり最大のバイオマスである。
- セルロースファイバーは紙パルプから製造され、軽量かつ高強度という特性を有する先端材料として注目されている。化粧品、抗菌・消臭シートなどのヘルスケア・医薬品分野や、電子デバイス、自動車部品などの工学分野においても幅広い利用が期待されている。
- これらのファイバー型材料を加工する技術は新規な材料物性を発現させる上において重要であると同時に、繊維質の強固な構造を分解し再生するためのリサイクル方法としても有用である。
- 分解物の糖類は、バイオエタノールの原料としても有用である。

セルロース線維

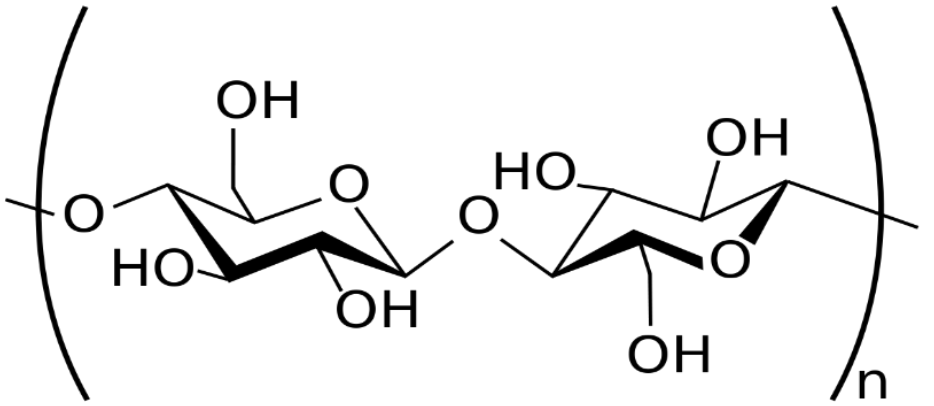
グルコースやセロビオースが重合して形成され、一般的に水に不溶性であり、構造内には多数の水素結合が形成されている。



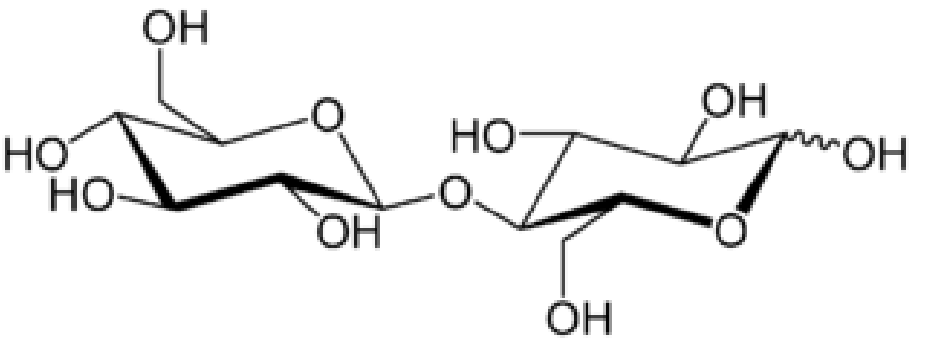


2 µm

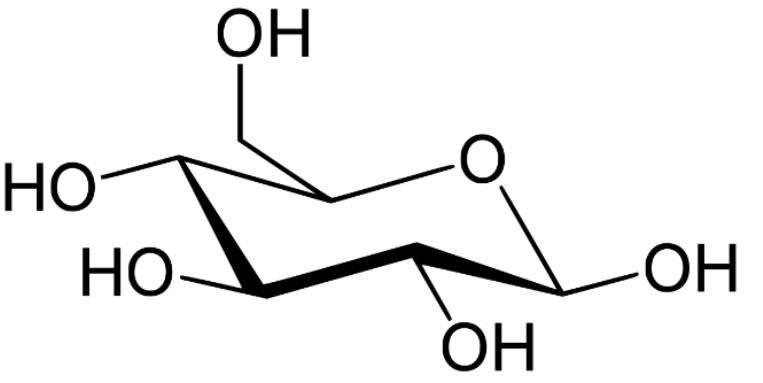
Cellulose



Cellobiose



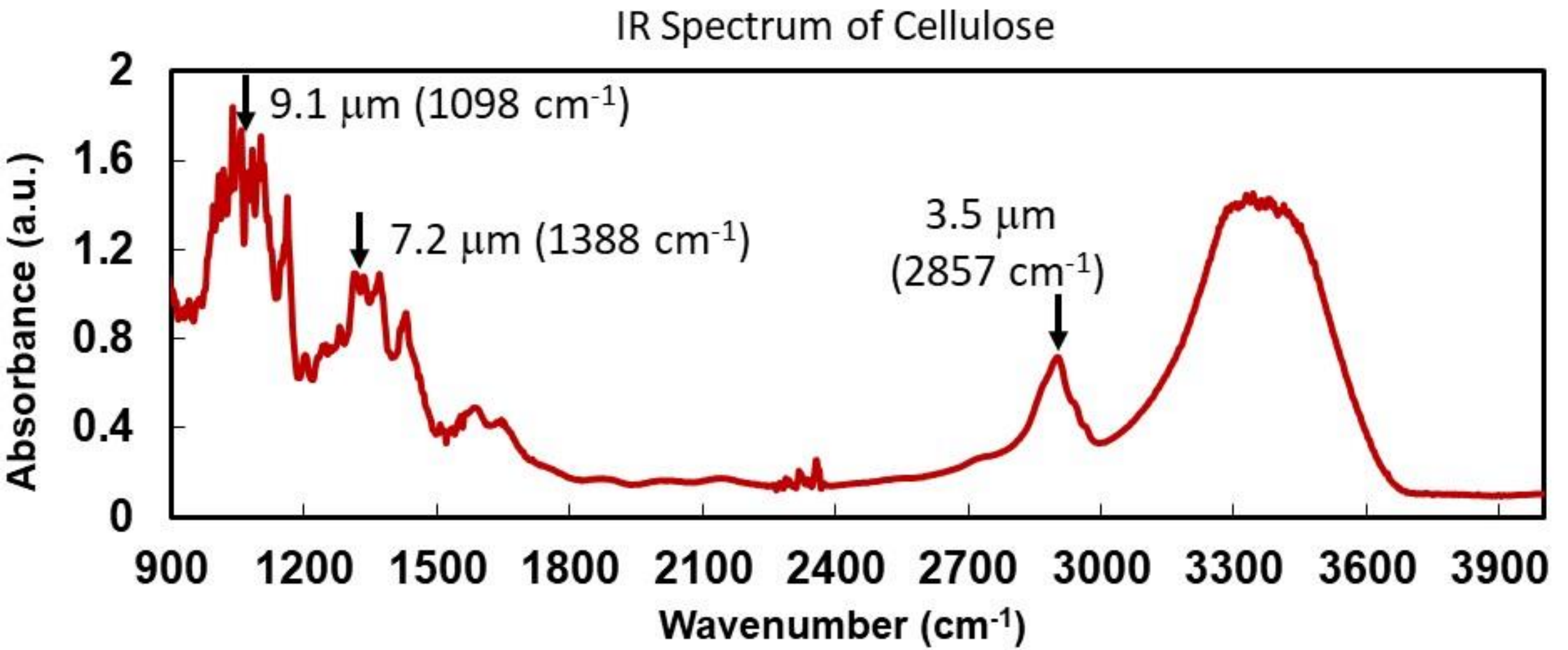
Glucose

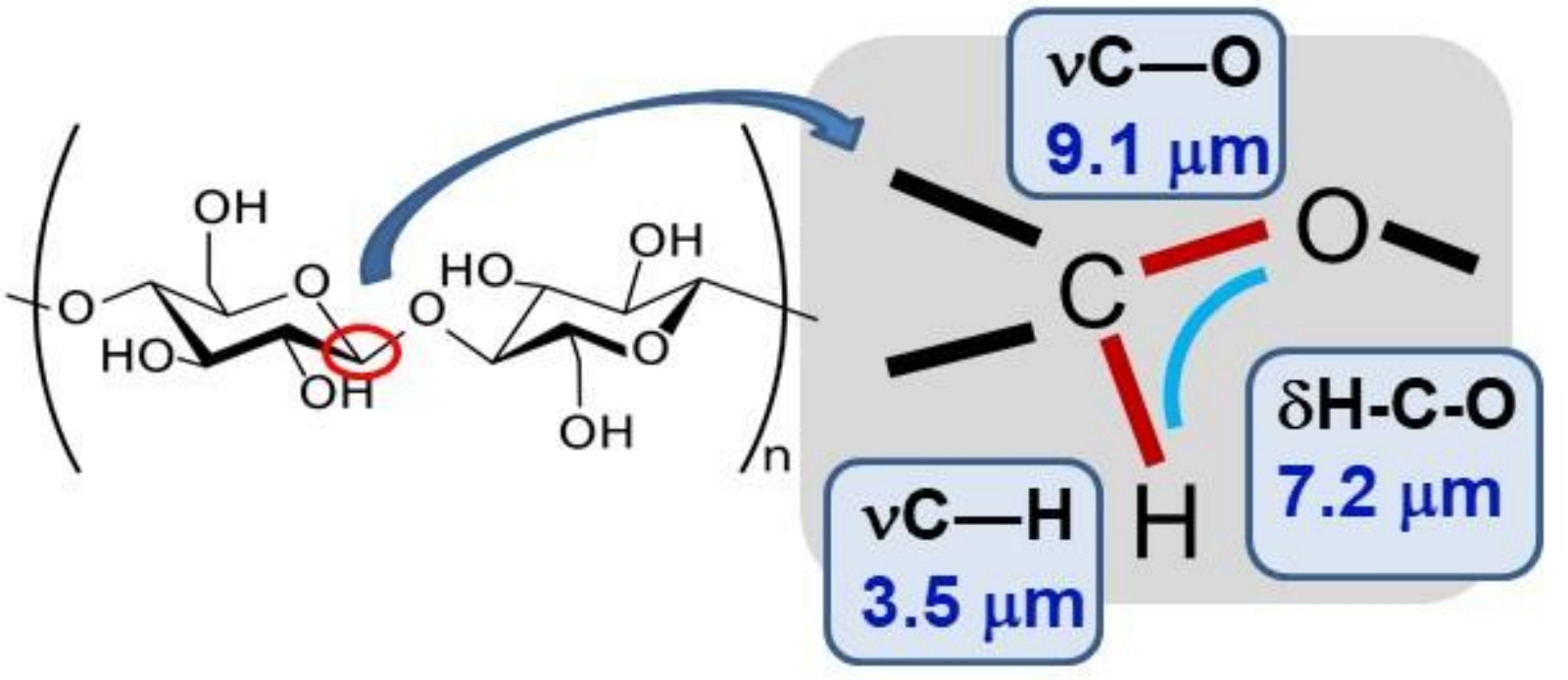


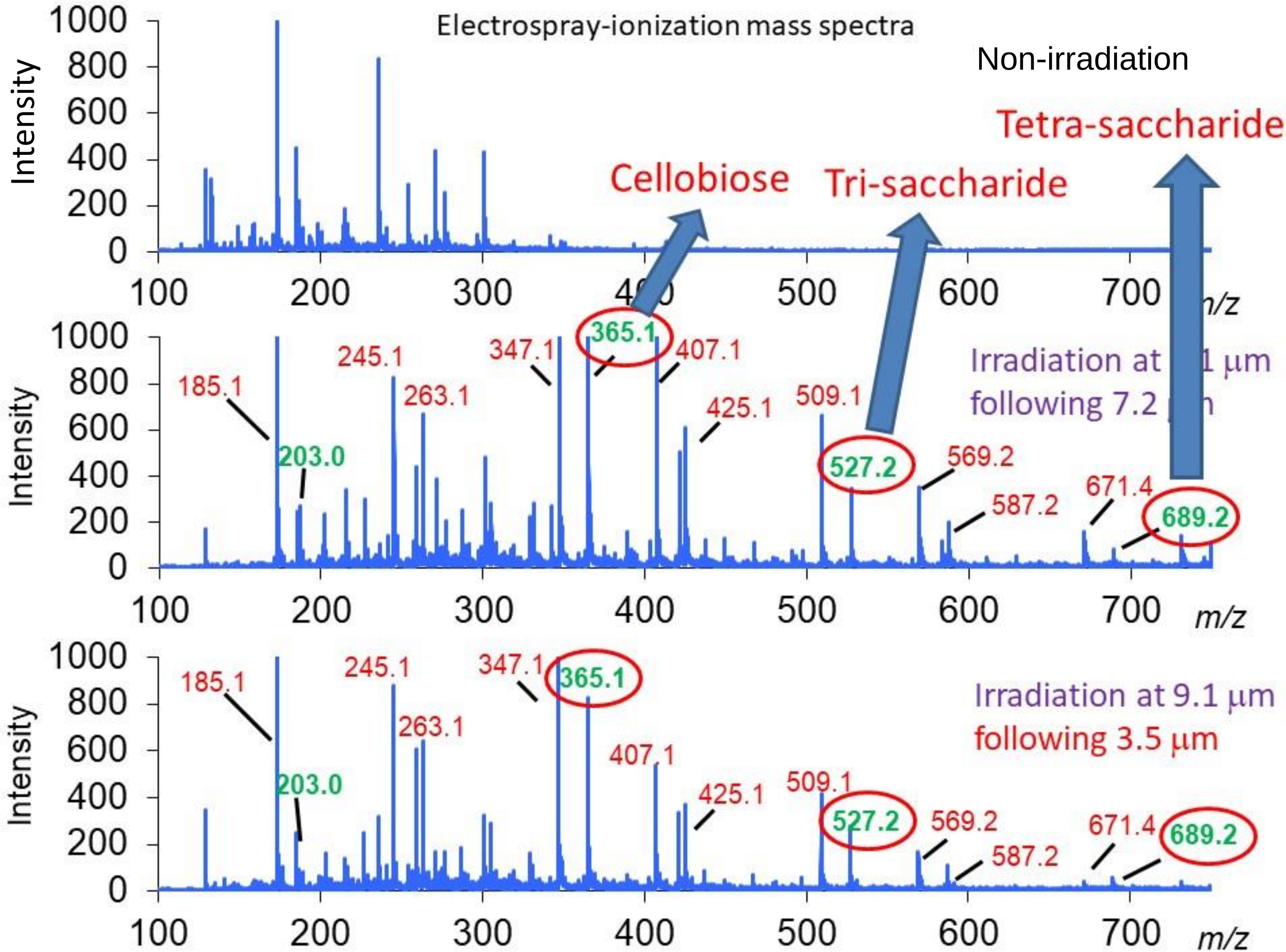
<u>従来法</u>

酸性条件下加水分解
微生物酵素

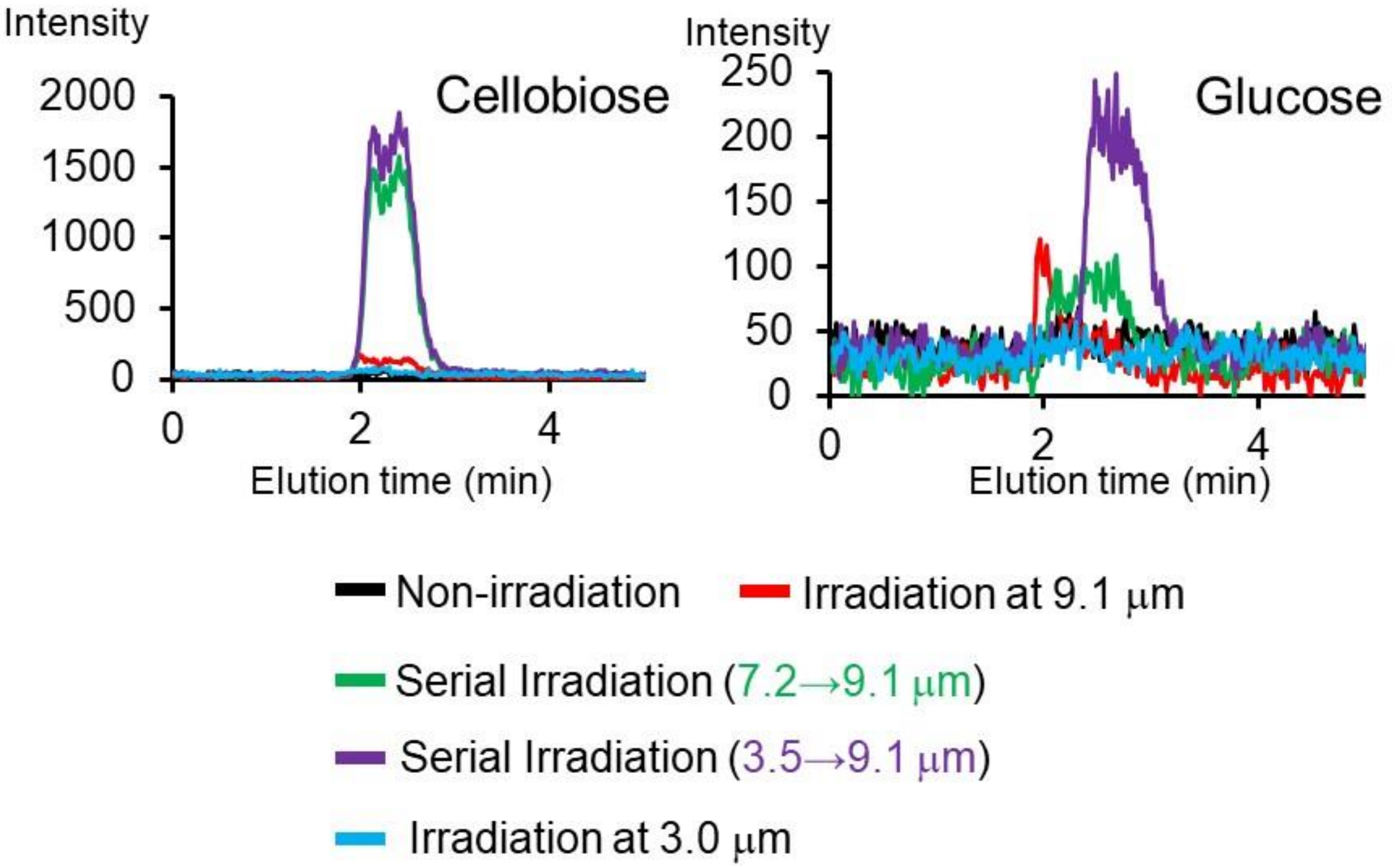
エタノール発酵


IR Spectrum of Cellulose
9.1 μm (1098 cm-1)
7.2 μm (1388 cm-1)
3.5 μm
(2857 cm-1)
Absorbance (a.u.)
2
1.6
1.2
0.8
0.4
0
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
Wavenumber (cm-1)

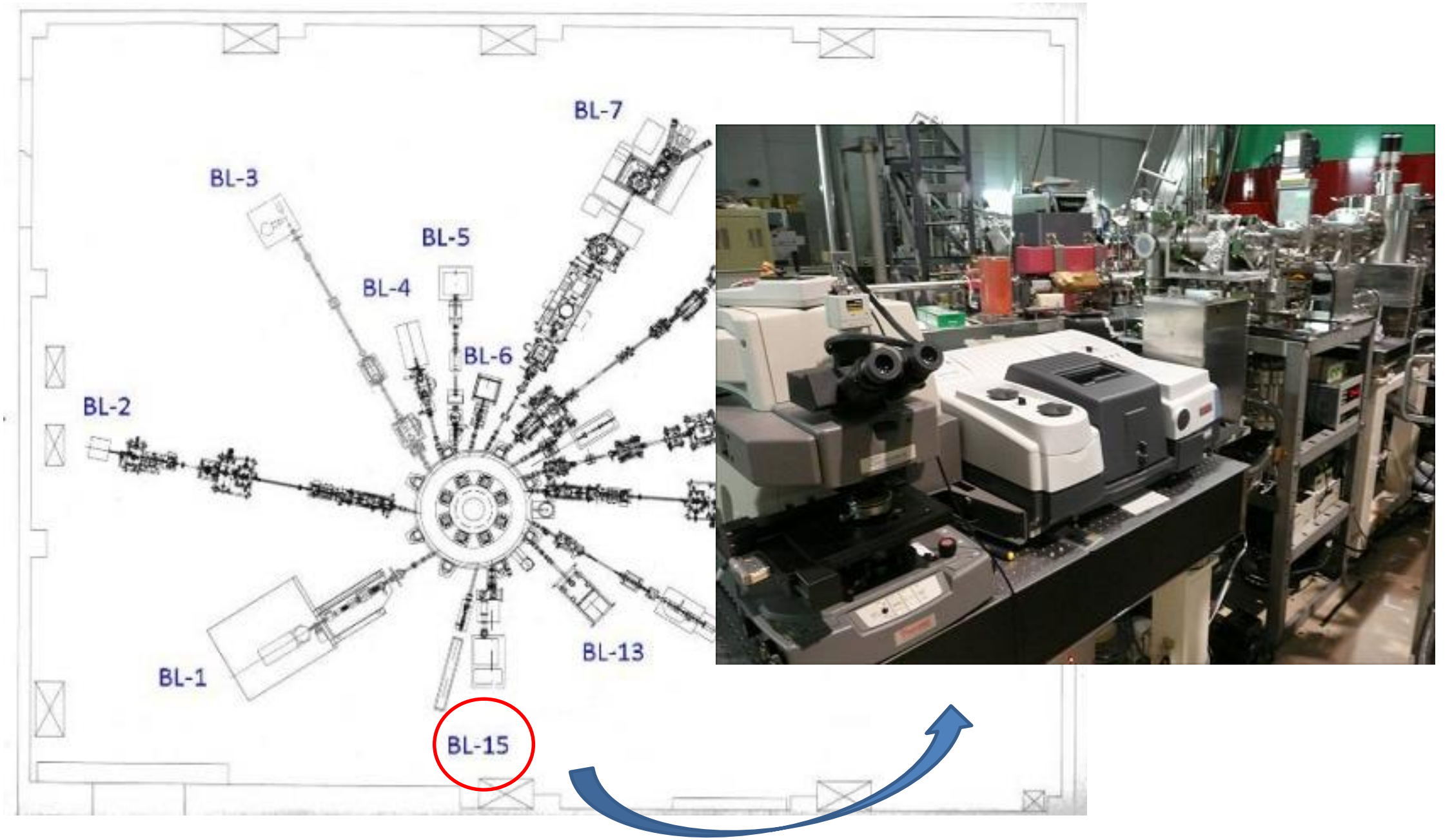

OH
O
HO
OH
O
HO
OH
O
OH
n
νC—O
9.1 μm
C
O
H
δH-C-O
7.2 μm
νC—H
3.5 μm


Electrospray-ionization mass spectra
Non-irradiation
Tetra-saccharide
Cellobiose
Tri-saccharide
Intensity
m/z
Irradiation at 1 μm
following 7.2 μm
185.1
203.0
245.1
263.1
347.1
365.1
407.1
425.1
509.1
527.2
569.2
587.2
671.4
689.2
Irradiation at 9.1 μm
following 3.5 μm

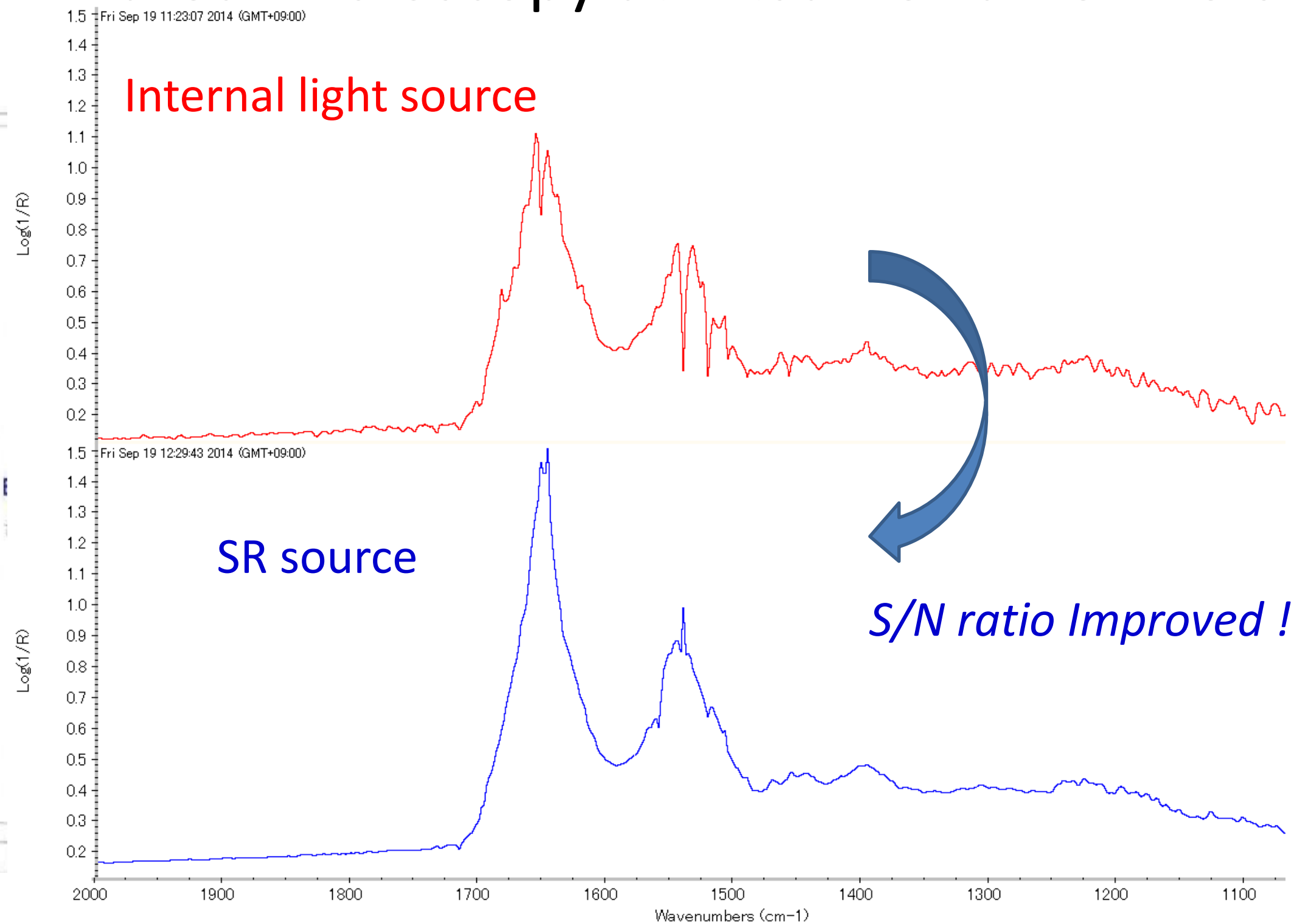
MS Chromatograms

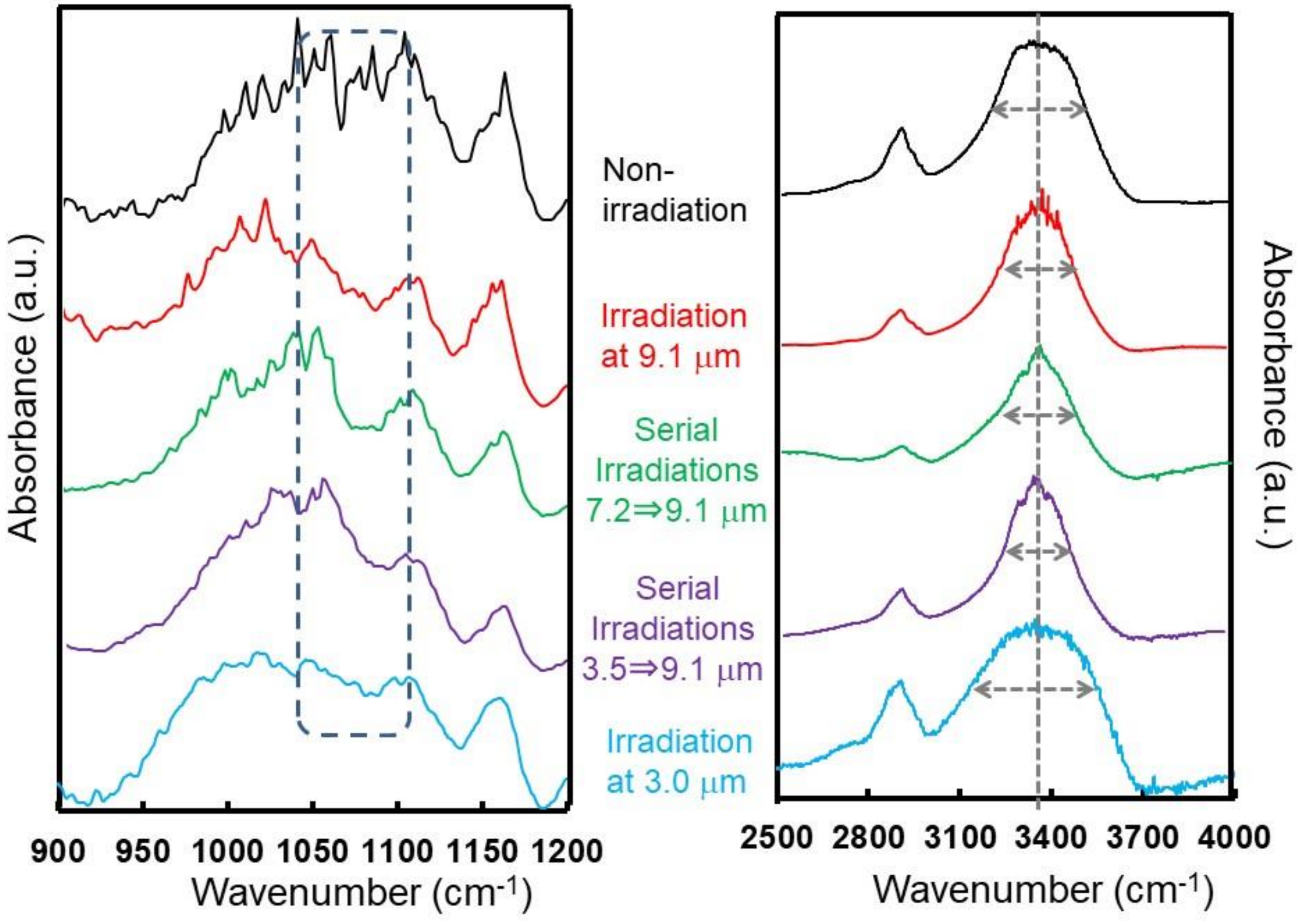


Synchrotron-Radiation
Infrared Microscopy at Ritsumeikan University

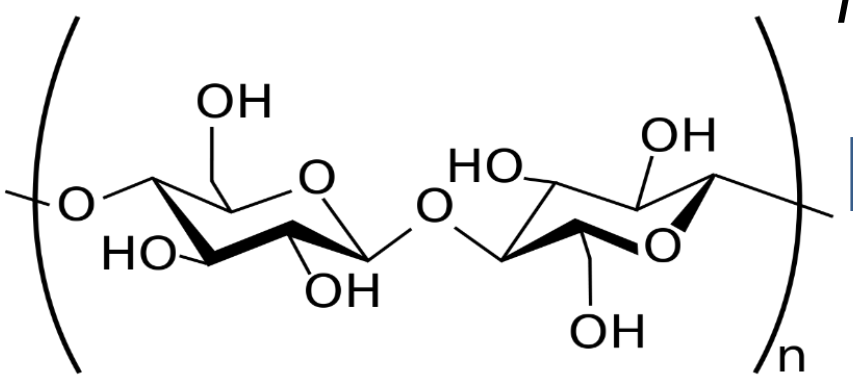


Synchrotron-Radiation Infrared Microscopy at Ritsumeikan University

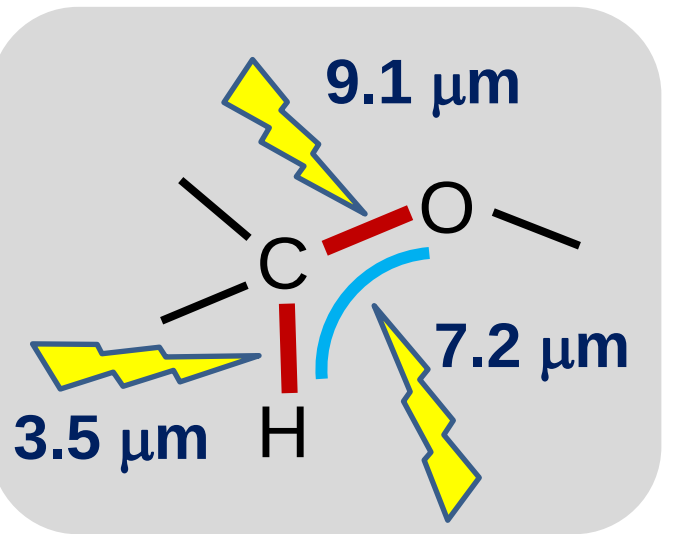



Absorbance (a.u.)
900 950 1000 1050 1100 1150 1200
Wavenumber (cm-1)
Non-irradiation
Irradiation at 9.1 μm
Serial Irradiations 7.2⇒9.1 μm
Serial Irradiations 3.5⇒9.1 μm
Irradiation at 3.0 μm
2500 2800 3100 3400 3700 4000
Wavenumber (cm-1)
Absorbance (a.u.)

Cellulose Fibril

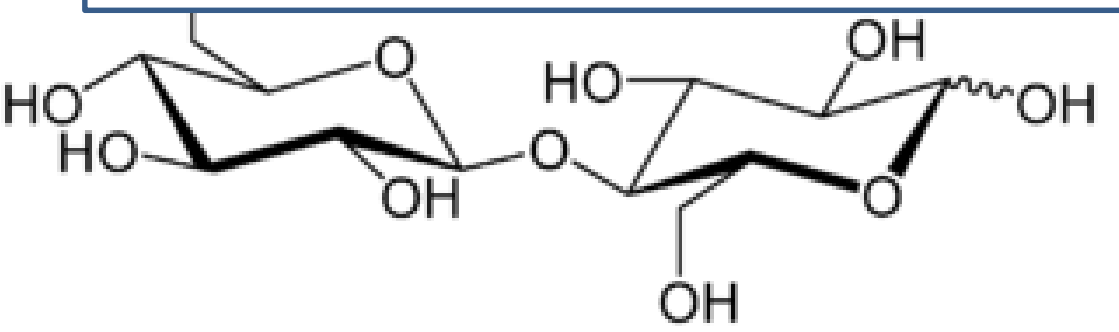


Vibrational excitation by infrared free electron laser

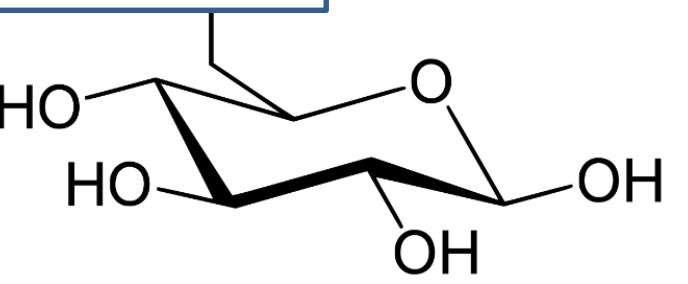


No solvents
No high-temperatures
No high-pressures

Green Technology!

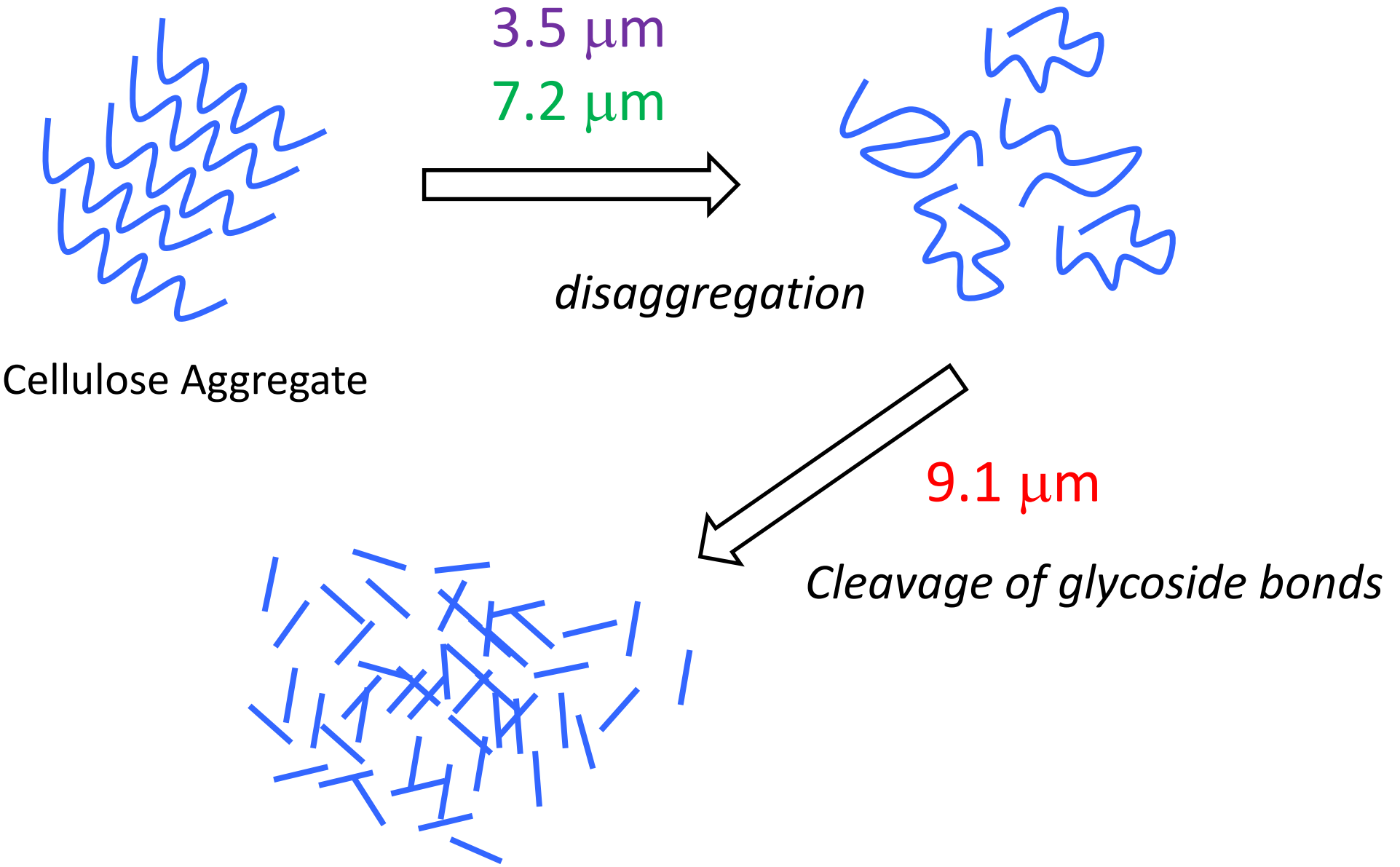


Cellobiose



Glucose

Key Steps in Laser Dissolution



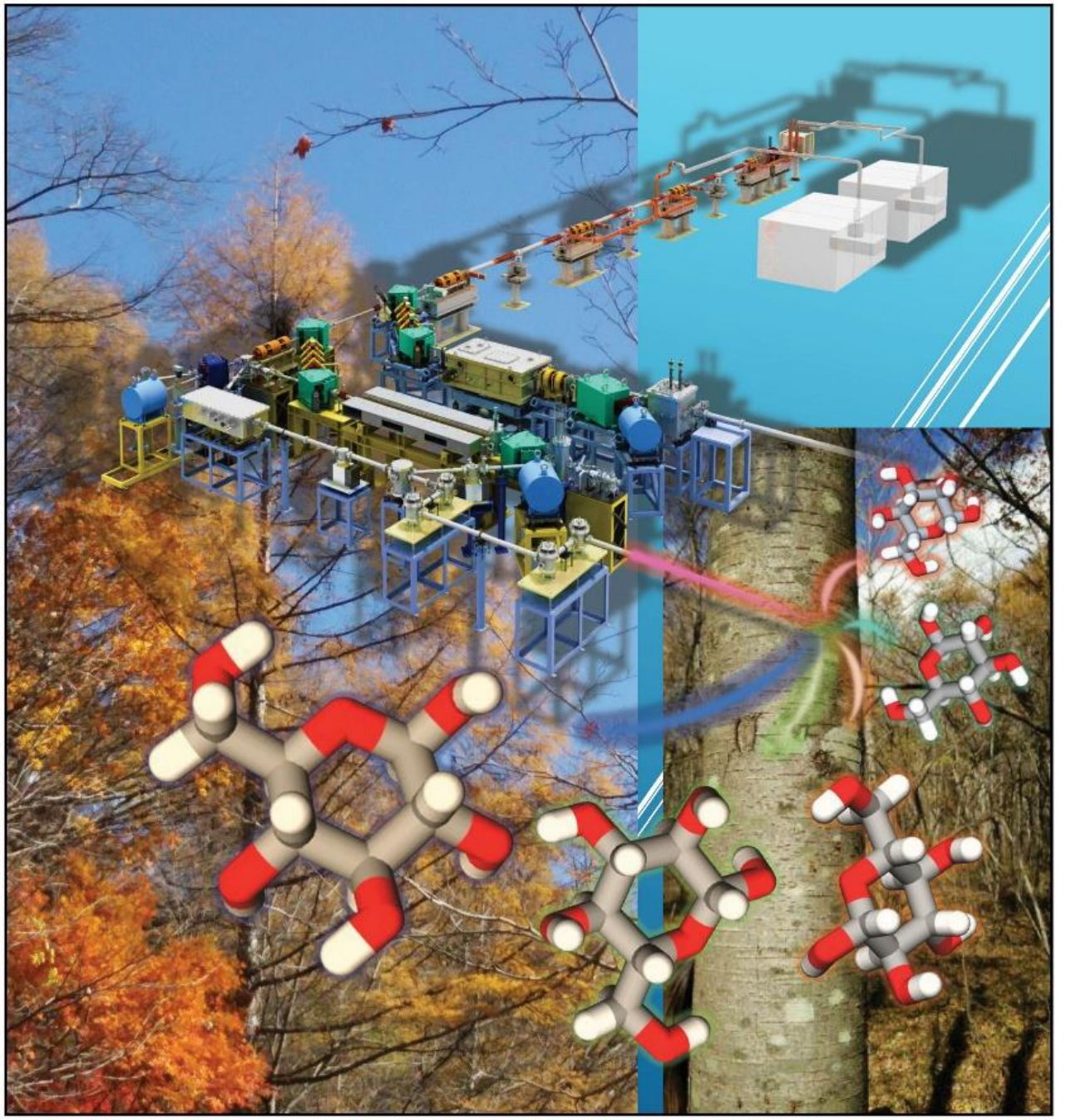
Future Study

The production yield of the glucose by using IR-FEL was comparatively low at the present laboratory scale (milligram level).

Therefore, successive irradiation system such as continuous supply of samples to the beamline should be developed for the mass production of glucose at gram scale.

In future, a compact-size and low-cost operation system that possesses the same oscillation parameters with the IR-FEL should be developed for the practical use.

energy&fuels
JULY 2020 VOLUME 34
pubs.acs.org/EF



T. Kawasaki, *et al*. *Energy & Fuels*, **34**(7), 9064-9068 (2020).

ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.
www.acs.org

プレスリリース　2020年6月29日付

東京理科大学
TOKYO UNIVERSITY OF SCIENCE

Cellulose Degradation by Infrared Free Electron Laser

Kawasaki *et al.* (2020) | *Energy & Fuels*
DOI: 10.1021/acs.energyfuels.0c01069

ご清聴ありがとうございました