

平成23年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号

2	3	・	1	0	8	3	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 フェムト秒レーザーを駆使した細胞間接着機構とその生物学的機能の力学的解明
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	イイノ 飯野	タカノリ 敬矩	物質創成科学研究科 特別研究員 (DC2)

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

細胞間の接着力評価の摂動として利用しているフェムト秒レーザー誘起衝撃力をパルスエネルギーの関数として調べ、その制御性を明らかにした。衝撃力の定量評価は原子間力顕微鏡を利用して行った^[1]。その結果、衝撃力は発生のしきい値(E_{th})からその2倍($2 \times E_{th}$)のエネルギー領域においてほぼ線形的に衝撃力強度が増加し、0.025 pN-s以内の精度で制御可能であることを見いだした。我々が行った先行研究^[2]等で得た細胞間接着力と比較すると、この制御の精度は接着力のばらつきとよりも小さいものであり、本手法の有効性を示す結果が得られた。フェムト秒レーザーを駆使した本手法は、短時間に多数の細胞を扱える為（神経-マスト細胞の場合、約100 samples/hrs）、細胞間のばらつきの影響を軽減して接着力を評価可能であると考えられるが、その実現には衝撃力の制御精度を明確に示すことが不可欠であった。衝撃力の制御精度を明らかにしたことで、神経-マスト細胞間の接着力の評価及び解析の信頼性を格段に向上させられたと考えている。

また、上述の評価研究では、フェムト秒レーザー誘起衝撃力の実体を物理学的に考察し、衝撃力の実体がキャビテーションバブルの生成によって生じる水の体積波であることを示唆する結果を得た。衝撃力の主な起源はフェムト秒レーザー集光後に発生する衝撃波とキャビテーションバブルであると考えられていたが、これらの寄与の実体については明らかにならなかった。本実験により、フェムト秒レーザー衝撃力を利用したこの新規な方法論を構築する上での根底をなす物理的性質を明らかにできたといえる。このように本年度、衝撃力の物理的性質とその制御性を明確にできたことで、神経-マスト細胞間の接着における物理的相互作用を、より踏み込んで考察することが可能になったと考えている。

[1] T. Iino and Y. Hosokawa, Appl. Phys. Express, 3(2010)
 [2] Y. Hosokawa, M. Hagiya, T. Iino et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108(2011)

10. キーワード

(1)フェムト秒レーザー (2)衝撃力 (3)細胞計測・操作 (4)接着力の定量評価 (5)衝撃力のパルスエネルギー依存性 (6)キャビテーションバブル (7)水の体積波 (8)

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分) ②おおむね順調に進展している
(理由) 接着力評価の摂動に用いているフェムト秒レーザー誘起衝撃力の物理的性質及び制御性をより明確にし、接着力の適切な解析の実現を目的とし、衝撃力の評価研究に力点をおいたため、当初計画していた神経-マスト細胞間の接着力評価の実験に若干の遅れが生じている。しかしながら、株化された神経芽細胞腫(Neuro2a)を用いて、ばらつきが少なく、短時間で多くのデータが取得できる系の樹立に成功し、その接着力の大きな時間変化はつかんでおり、おおむね順調に進展しているといえる。

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

Neuro2a の神経軸索とマスト細胞の接着力が、共培養を開始してから10から20時間で、その接着力強度が増加し、また個体ごとの接着力のばらつきが減少する傾向がみられており、データ点数をかせぎ、その変化をより明瞭にしていく。その後、接着分子を形質転換した系を用いて接着力変化を同様に調べ、それらの時間変化を説明する数理的なモデルの構築を行う。さらに、接着分子(CADM1)を蛍光標識し、その挙動を調べ、構築した数理的モデルと照合することで細胞レベルの接着における接着分子の効果(あるいは、その他の効果)を明らかにする。こうした知見に基づいて、細胞間の接着の分子的機構を考察する。研究の進行はやや遅れているものの、Neuro2aの使用により実験頻度は向上しており、進行の遅れが拡大する可能性は高くないと考えられる。従って、当初の研究計画の順に従って研究を遂行していく。

13. 研究発表 (平成23年度の研究成果)

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

【雑誌論文】 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名	論文標題						
萩山満、古野忠秀、細川陽一郎、飯野敬矩、伊東剛、井上敬夫、中西守、村上善則、伊藤彰彦	Enhanced Nerve-Mast Cell Interaction by a Neuronal Short Isoform of Cell Adhesion Molecule-1						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁	
The Journal of Immunology	有	Vol. 186 No. 10	2	0	1	1	5983-5992
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.4049/jimmunol.1002244							

著者名	論文標題						
細川陽一郎、越智陽城、飯野敬矩、平岡章宏、田中幹子	Photoporation of Biomeolecules into Single cells in Living Vertebrate Embryos Induced by a Femtosecond Laser Amplifier						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁	
PLoS ONE	有	Vol. 6 No. 11	2	0	1	1	pp. e27677_1 - e27677_7
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.1371/journal.pone.0027677.g001							

著者名	論文標題						
細川陽一郎、飯野敬矩、萩山満、伊藤彰彦	原子間力顕微鏡を用いたフェムト秒レーザー誘起衝撃力の定量化ーバイオメカニクスへの新しいアプローチ方法ー						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁	
バイオイメージング	有	20	2	0	1	2	pp. 7-12
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
なし							

〔学会発表〕計(7)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標 題		
飯野敬矩	Femtosecond Laser Estimation of Intercellular Adhesion Strength between Neurite and Mast Cell Part2		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本生物物理学会第49回年会講演	2011年9月18日	兵庫県立大学書写キャンパス	

発表者名	発表標 題		
飯野敬矩	フェムト秒レーザー誘起衝撃力を用いた新しい細胞操作・計測		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第二回先端フォトリクスシンポジウム	2011年10月7日	日本学術会議講堂	

発表者名	発表標 題		
飯野敬矩	原子間力顕微鏡を用いた水中フェムト秒レーザー誘起衝撃力の制御性評価		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第59回応用物理学関係連合講演会	2012年3月16日	早稲田大学	

発表者名	発表標 題		
飯野敬矩	Elucidation of Characteristics of Femtosecond Laser-induced Impulsive Force		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing	2012年3月19日	東大寺総合文化センター	

発表者名	発表標 題		
田中幹子	Femtosecond laser-introduction of bionanomolecules in targeted single cells of living vertebrate embryos		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第44回日本発生生物学会大会	2011年5月20日	沖縄コンベンションセンター	

発表者名	発表標 題		
細川陽一郎	Non-Contact Estimation of Intercellular Adhesion Using Femtosecond Laser-Induced Impulsive Force		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 12th International Symposium on Laser Precision Microfabrication (LPM2011)	2011年6月7日	高松市	

発表者名	発表標 題		
細川陽一郎	Mechanical Ablation of Biological Tissue Induced by Focused Femtosecond Laser and Its Estimation by Atomic Force Microscopy		
学会等名	発表年月日	発表場所	
Conference on Laser Ablation (COLA2011)	2011年11月13日	プラヤ・デル・カルメン (メキシコ)	

〔図 書〕 計(0)件

著者名	出版 社			
書 名	発行年	総ページ数		

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出願】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取得】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

http://mswebs.naist.jp/LABs/env_photo_greenbio/index.html