

平成23年度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 新学術領域研究 4. 研究期間 平成22年度～平成26年度
5. 課題番号

2	2	1	2	0	0	1	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 フェムト秒レーザーを駆使した植物細胞の局所操作と刺激法の開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名				
20448088	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr><td>ホカ</td><td>ヨウ</td></tr> <tr><td>細川</td><td>陽一郎</td></tr> </table>	ホカ	ヨウ	細川	陽一郎	物質創成科学研究科	特任准教授
ホカ	ヨウ						
細川	陽一郎						

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。

高強度のフェムト秒レーザーを顕微鏡で集光した時、集光点で多光子吸収が引き起こされ、さらには切断現象や爆発現象が引き起こされる。本研究では、この局所的な切断現象や爆発現象を駆使し、生きた植物組織のレーザーマイクロダイセクションを実現し、さらには単一レベルの植物細胞の機能制御を目指している。本年度、フェムト秒レーザーが導入できる共焦点蛍光顕微鏡システムを開発した。細胞核、細胞膜、小胞体などのオルガネラを緑色蛍光蛋白質により蛍光染色されたシロイヌナズナを試料として用い、細胞内を局所的に加工する実験を実施した。この実験系により細胞に外部損傷を与えず細胞内のオルガネラを加工できることを示した。例えば、細胞核を染色したシロイヌナズナの細胞に対し、細胞核にフェムト秒レーザーを集光して加工をおこない、細胞壁を傷つけずに、細胞内の細胞核を加工することに成功した。また細胞壁の局所にレーザーを集光照射したとき、細胞壁が損傷を受けない条件でも細胞全体が縮小することを発見した。植物細胞は外圧よりも高い状態で細胞内の圧力を保つことにより、その形状を維持している。また主に脂質分子で構成される細胞膜は、セルロースで形成されている細胞壁よりも機械強度が低く、フェムト秒レーザーの集光点で誘導される爆発現象により、細胞壁に比べて簡単に崩壊すると考えられる。つまり、レーザー照射により誘導された植物細胞の縮小は、細胞壁が保たれたまま細胞膜のみが損傷し、そこから細胞内の水分子が流出した可能性を示すものである。今後、細胞外の圧力を物理的に制御するシステムを構築し、植物壁を破壊しないで植物細胞内の物質の流出入を制御する新手法を確立していきたいと考えている。さらに、-10℃まで冷却できる顕微鏡ステージを開発し、レーザー照射による気泡発生を抑制しながら、乾燥していない植物試料を高精度にマイクロダイセクションすることに成功した。

10. キーワード

- | | | | |
|---------------|----------|---------------------|--------------|
| (1) フェムト秒レーザー | (2) 植物細胞 | (3) レーザーマイクロダイセクション | (4) レーザー細胞操作 |
| (5) レーザー衝撃波 | (6) | (7) | (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) ①当初の計画以上に進展している。
(理由) 本年度は、新学術領域研究(総括:長谷あきら)に属する植物学研究者と密に交流を図ることができ、申請者が植物生理について、植物学研究者がレーザーについての理解を深めたため、新しい研究のアイデアが大きく膨らんだ。その結果、当初計画で予定していた従来方法の延長にあるレーザー利用とは根本的に異なる可能性が広がるようとしている。

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。

今後さらに、植物学研究者との交流を深め、フェムト秒レーザーによるマイクロダイセクションや単一レベルの植物細胞の機能制御を、共同研究により具体的なものとし、ターゲットを絞って更に展開させていく。
--

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(5)件 うち査読付論文 計(4)件

著者名	論文標題				
Yoichiroh Hosokawa, Haruki Ochi, Takanori Iino, Akihiro Hiraoka, Mikiko Tanaka	Photoporation of biomolecules 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				
Hideaki Yamamoto, Kazunori Okano, Takashi Tanii, Takanori Demura, Yoichiroh Hosokawa, Hiroshi Masuhara, Shun Nakamura	In-situ guidance of individual neuronal processes by wet femtosecond-laser processing of self-assembled monolayers				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Appl. Phys. Lett.	有	Vol. 99 No.16	2	0 1 1	pp.163701_1 -163701_3
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					
10.1063/1.3651291					

者名	論文標題				
Yoichiroh Hosokawa, Hiroshi Masuhara, Takahiro Kaji	Three-dimensional analysis of tightly focused femtosecond laser beam and shockwave propagations in water				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Int. J. Optomechanics	有	in press	2	0 1 2	in press
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					
なし					

著者名	論文標題					
細川陽一郎	ソフトマテリアルのフェムト秒レーザー加工ーレーザー誘起衝撃による単一細胞の非破壊加工ー					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
光アライアンス	無	in press	2	0	1 2	in press
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						
なし						

著者名	論文標題					
細川陽一郎	蛋白質の超短パルスレーザー誘起結晶化					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁	
低温生物工学会誌	有	in press	2	0	1 2	in press
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 (22) 件 うち招待講演 計 (4) 件

発表者名	発表標題		
Yoichiroh Hosokawa, Takahiro Kaji and Hiroshi Masuhara	Three - dimensional analysis of tightly focused femtosecond laser beam and shockwave propagations in water		
学会等名	発表年月日	発表場所	
ISOT2011 International Symposium on Optomechatronic Technologies (招待講演)	November 2, 2011	Hong Kong	

発表者名	発表標題		
Hideaki Yamamoto, Kazunori Okano, Takanori Demura, Yoichiroh Hosokawa, Takashi Tanii, and Shun Nakamura	In Situ Guidance of Individual Neuronal Processes by Wet Femtosecond-Laser Processing of Self-Assembled Monolayers		
学会等名	発表年月日	発表場所	
2011 MRS Fall Meeting & Exhibit	November 28, 2011	Boston, USA	

発表者名	発表標題		
Yoichiroh Hosokawa	Innovative femtosecond laser applications for investigation of plant perception		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing (招待講演)	March 19, 2012	Todaiji Culture Center, Nara, Japan	

発表者名	発表標題		
Takanori Iino, and Yoichiroh Hosokawa	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	March 19, 2012	Todaiji Culture Center, Nara, Japan	

発表者名	発表標題		
Satoru Kumano and Yoichiroh Hosokawa	New system to freeze supercooled water by femtosecond laser impulse		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing	March 19, 2012	Todaiji Culture Center, Nara, Japan	

発表者名	発表標題	
Akinori Shigemasa, Sayaka Sakaguchi, Ikuko Hara-Nishimura, Kentarou Tamura, Akira Nagatani, Yoichiroh Hosokawa	Individual processing of single plant organelle by femtosecond laser impulse	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing	March 19, 2012	Todaiji Culture Center, Nara, Japan

発表者名	発表標題	
Masanobu Takenaka, Yoichiroh Hosokawa	Numerical simulation toward elucidation of kinetic response of small living organ with femtosecond laser impulse	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing	March 19, 2012	Todaiji Culture Center, Nara, Japan

発表者名	発表標題	
田中幹子, 越智陽城, 飯野敬矩, 平岡章宏, 細川陽一郎	Femtosecond laser-introduction of bionanomolecules in targeted single cells of living vertebrate embryos (高出力フェムト秒レーザーによる脊椎動物胚の単一細胞へのバイオナノ粒子の物理的導入方)	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本発生物学会第44回大会	2011年5月20日	沖縄コンベンションセンター (沖縄)

発表者名	発表標題	
細川陽一郎	超短パルスレーザーをトリガーとした蛋白質の結晶化:氷化メカニズムとの関連性	
学会等名	発表年月日	発表場所
第56回低温生物工学会大会(招待講演)	2011年7月7日	いわて県民情報交流センター (岩手)

発表者名	発表標題	
細川陽一郎, 長谷あきら	フェムト秒レーザーによる植物組織の単一細胞加工	
学会等名	発表年月日	発表場所
第72回応用物理学会学術講演会	2011年8月31日	山形大学(山形)

発表者名	発表標題	
山本英明, 岡野和宣, 出村崇徳, 細川陽一郎, 谷井孝至, 中村俊	液中レーザープロセスによる細胞培養環境場での神経突起誘導とその機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
第72回応用物理学会学術講演会	2011年8月31日	山形大学(山形)

発表者名	発表標題	
出村崇徳, 山本英明, 森田麻裕, 一澤晃太, 益田顕太郎, 細川陽一郎, 中村俊, 谷井孝至	酸化チタンの光触媒作用を用いた細胞接着表面の液中パターンニング	
学会等名	発表年月日	発表場所
第72回応用物理学会学術講演会	2011年8月31日	山形大学(山形)

発表者名	発表標題	
細川陽一郎	バイオで注目されるフェムト秒レーザーの実践応用技術	
学会等名	発表年月日	発表場所
平成23年(2011年)電気学会 電子・情報・システム部門大会	2011年9月9日	富山大学(富山)

発表者名	発表標 題	
熊野 悟, 細川陽一郎	フェムト秒レーザーによる氷化誘導実験の試み	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「植物環境感覚」第2回若手の会	2011年10月25日	ホテルラフォーレ琵琶湖(滋賀)

発表者名	発表標 題	
重政彰徳, 細川陽一郎	植物を用いたフェムト秒レーザーによる遺伝子導入の試み	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「植物環境感覚」第2回若手の会	2011年10月25日	ホテルラフォーレ琵琶湖(滋賀)

発表者名	発表標 題	
竹中将信, 細川陽一郎	フェムト秒レーザー衝撃力と物体の作用のシミュレーション	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「植物環境感覚」第2回若手の会	2011年10月25日	ホテルラフォーレ琵琶湖(滋賀)

発表者名	発表標 題	
竹中将信, 細川陽一郎	微小生物組織とAFM 探針のレーザー 衝撃波の力学応答	
学会等名	発表年月日	発表場所
COMSOLカンファレンス東京 2011	2011年12月2日	秋葉原UDX(東京)

発表者名	発表標 題	
熊野 悟, 細川陽一郎	フェムト秒レーザーによる氷化誘導実験系の作製	
学会等名	発表年月日	発表場所
電気学会 光・量子デバイス研究会	2012年3月9日	静岡大学(静岡)

発表者名	発表標 題	
Akinori Shigemasa, Sayaka Sakaguchi, Kentarou Tamura, Ikuko Nishimura, Akira Nagatani, Yoichiroh Hosokawa	Individual pocessing of single plant organelle by femtosecond laser	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本植物生理学会年会	2012年3月16日	京都産業大学(京都)

発表者名	発表標 題	
Yoichiroh Hosokawa	Application of femtosecond laser processing for investigation of plant perception	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本植物生理学会年会 (招待講演)	2012年3月18日	京都産業大学(京都)

発表者名	発表標 題	
飯野 敬矩, 細川陽一郎	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
2012年春季 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(東京)

発表者名	発表標 題	
竹中将信, 細川陽一郎	AFM 探針に過渡的に誘導されるねじれ運動の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
2012年春季 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(東京)

【図 書】 計 (1) 件

著 者 名	出 版 社				
細川陽一郎	オーム社				
書 名	発 行 年			総ページ数	
「先端固体レーザー」第8章2章10項「バイオ応用」	2	0	1	1	3

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。

--