

様 式 C - 7 - 1

平成 2 6 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 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成 2 2 年度～平成 2 6 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
2 0 4 4 8 0 8 8	ホソカワ ヨウイチロウ 細川 陽一郎	物質創成科学研究科	准教授

8. 研究分担者

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

AFMとレーザーを用いた植物細胞組織の堅さの評価：これまでに、顕微鏡下でAFM探針をシロイヌナズナの根の先端に押し当て、フェムト秒レーザー衝撃力を作用させ、根の過渡的な振動応答を検出することに成功している。本年度はこの振動応答が微小植物試料の如何なる機械特性を意味しているかを明らかにすることを目的とし、ゴム製の多孔質ハニカムフィルムを用いて実験を行い、その振動挙動を検出することに成功した。

レーザー誘起衝撃力による植物個体からの抽出液の氷化誘導：シロイヌナズナやライムギからの抽出液を過冷却状態にし、そこにレーザー誘起衝撃力を作用させて氷結晶の発生を誘導し、氷結晶の成長過程を観察した。これらの抽出液からは純水中とは異なる6分岐以上の樹上結晶が発生し、その成長速度は純水中よりも遅かった。さらに低温に馴化させた試料の方がこの傾向が強く、また糖水溶液中でも同様の現象が観察された。これらの結果より、植物が低温馴化する際に糖の濃度を上昇させ、細胞間隙で氷結晶が発生した際に細胞への損傷を抑制させる機構が、凍結耐性の一つとして示唆された。本研究は、上村松生班（計画研究イ）との共同研究である。

フェムト秒レーザーによる植物細胞への遺伝子導入：昨年度、浸透圧調整した植物細胞に対してレーザーを集光照射することにより、植物細胞へGFP遺伝子を導入することに成功したと思われたが、細胞からの蛍光がGFPの発現によるものではなく、自家蛍光であることが分かった。動物細胞で実現しているレーザー遺伝子導入が植物で難しい理由として、細胞壁による遮蔽を考えられ、細胞壁を酵素処理により緩く変性させて、プラスミドと同程度の大きさ(> Mega Dalton)のDextranの導入をおこなった。その結果、導入が成功したと考えられる結果が得られた。本研究は、長谷あきら班（計画研究ア）らとの共同研究である。

10. キーワード

(1) フェムト秒レーザー

(2) 植物細胞

(3) レザー-マイクロカテーテル

(4) レザー-細胞操作

(5) レザー-衝撃波

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

26年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

26年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件 うち査読付論文 計(2)件

著者名		論文標題			
Kazusato Oikawa, Shigeru Matsunaga, Shoji Mano, Maki Kondo, Kenji Yamada, Makoto Hayashi, Takatoshi Kagawa, Akeo Kadota, Wataru Sakamoto, Shoichi Higashi, Masakatsu Watanabe, Toshiaki Mitsui, Akinori Shigemasa, Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa & Mikio Nishimura		Physical interaction between peroxisomes and chloroplasts elucidated by in situ laser analysis			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Nature Plants	有	1	2	015	15035
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1038/nplants.2015.35					

著者名		論文標題			
Takeshi Yamakawa, Akihiro Maruyama, Hirohisa Uedan, Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa		Experimental and calculative estimation of femtosecond laser induced-impulsive force in culture medium solution with motion analysis of polymer micro-beads			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Proceeding of SPIE	有	9350	2	015	in press
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1117/12.2077403					

(学会発表) 計(7)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題	
小林啓恵, 平塚奏太郎, 宮沢豊, 藤井伸治, 長谷あきら, 細川陽一郎, 高橋秀幸		シロイヌナズナの水分屈性に機能する細胞群の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本植物学会第78回大会	2014年09月12日~2014年09月18日	明治大学(神奈川県川崎市)	

発表者名	発表標題	
福嶋亮介、宮本敏男、山川健、飯野敬矩、細川陽一郎	フェムト秒レーザー誘起衝撃力が微小生体試料へ及ぼす作用の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
COMSOL Conference Tokyo 2014	2014年12月05日	秋葉原UDXカンファレンス(東京都千代田区)

発表者名	発表標題	
Daisuke Katagiri, Sayaka Sakaguchi, Arata Yoneda, Taku Demura, Yoichiroh Hosokawa	Evaluation of trade-off between femtosecond laser manipulation and viability of plant cell	
学会等名	発表年月日	発表場所
PSROC 2015 Annual Meeting	2015年01月28日～2015年01月30日	National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan

発表者名	発表標題	
Takeshi Yamakawa, Akihiro Maruyama, Hirohisa Uedan, Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa	Experimental and calculative estimation of femtosecond laser induced-impulsive force in culture medium solution with motion analysis of polymer micro-beads	
学会等名	発表年月日	発表場所
SPIE photonics West 2015	2015年02月07日～2015年02月12日	The Moscone Center, San Francisco, USA

発表者名	発表標題	
Daisuke Katagiri, Tatsuya Kono, Sayaka Sakaguchi, Shinya Ryutaro, Takanori Iino, Hitoshi Endo, Arata Yoneda, Taku Demura, Yu Yoshi Miki, Daisuke Takahashi, Yukio Kawamura, Akira Nagatani, ichiroh Hosokawa	Introduction of megadalton molecule into single plant cell and ice crystal formation of plant extract solution induced by femtosecond laser impulse	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing	2015年03月13日～2015年03月15日	AIST Tokyo Waterfront Annex(東京都江東区)

発表者名	発表標題	
T. Miyamoto, R. Fukushima, M. Takenaka, T. Iino, M. Nakano, M. Kamiya, S. Miyashima, K. Nakajima, H. Iida, and Y. Hosokawa	AFM Detection of nm Vibration of Micro-Biological Object Induced by Femtosecond Laser Impulse and Its Analysis to Elucidate Surface Stiffness of Micro-Plant Tissue	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing	2015年03月13日～2015年03月15日	AIST Tokyo Waterfront Annex(東京都江東区)

発表者名	発表標題	
T. Yamakawa, A. Maruyama, A. Shigemasa, H. Uedan, T. Iino, K. Oikawa, S. Mano, K. Yamada, M. Nishimura, T. Murai, Y. Hosokawa	Elucidation of Explosive Phenomena of Water Medium Induced by Femtosecond Laser Impulse and its Action to Micro-sized Plant Object	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing	2015年03月13日～2015年03月15日	AIST Tokyo Waterfront Annex(東京都江東区)

(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

--