

平成21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 基盤研究（B）      4. 研究期間 平成20年度 ～ 平成22年度
5. 課題番号 2 0 3 1 0 0 7 5
6. 研究課題名 フェムト秒レーザー衝撃を用いたハイスループット液中極微量試薬添加技術の基礎検討

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 4 4 3 2 5 0	フガナ オカノ, カズノリ 岡野 和宣	物質創成科学研究科	研究員

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
6 0 0 2 9 5 5 1	フガナ マスハラ, ヒロシ 増原 宏	物質創成科学研究科	特任教授
2 0 4 4 8 0 8 8	フガナ ホカワ, ヨウイチロウ 細川 陽一郎	物質創成科学研究科	特任准教授
3 0 4 5 5 4 4 8	フガナ ウワダ, タカユキ 宇和田 貴之	物質創成科学研究科	研究員
	フガナ		
	フガナ		

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。

マイクロ・ナノバイオ研究基盤技術として、1) フェムト秒パルスレーザーの液中照射時に集光部で溶媒が多光子吸収を起こして発生する局所的な爆発現象“マイクロ・ナノ津波”を駆使して、試薬包埋基板から生理活性試薬を局所添加する技術、2) 液中で基板表面にフェムト秒レーザーを照射したときに起きる新たに観測した現象とこれを用いたバイオ応用可能な基板加工技術についての先行的な結果を報告する。

1) 試薬の液中添加： ガラス表面にアドレナリン、ハロペリドール、アセチルコリンを基板上に塗布した試薬基板を作成した。マウス由来 P19CL6 細胞をジメチルスルホキシドで心筋様拍動細胞に分化誘導した細胞塊上に培地を介して試薬基板を配置し、フェムト秒レーザーを照射した。その結果、アドレナリン固定基板では拍動周期が上昇し、アセチルコリン基板では拍動が停止することが観察された。ハロペリドールでは、明確な結果は得られなかった。本方法は液中での非接触試薬添加が可能と結論した。

2) 新現象： 上記試薬添加に関しては、レーザーを液中集光している。これはガラス基板上に緩やかに保持されている試薬包埋ポリマーに対して有効な方法である。これに対して基板上に化合物を化学的に強固に固定した基板に対してレーザー照射を試みた。その結果、液中に配した基板の内部にレーザーを集光すると、表面の化合物が飛散するのではなく熱的あるいは光化学的な修飾を受けた。テフロン系高分子を固定した細胞非接着性表面を持つガラス基板内部をフェムト秒レーザー(0.5 mW, 1 kHz)で 20 μm/s の速度で走査したところ表面が細胞接着性に変化した。レーザー照射表面の AFM や XPS による表面分析結果では、テフロン系高分子からフッ素が離脱し、炭素あるいは炭化水素が表面を覆っている結果となった。このため細胞が接着するようになったと予想される。本方法は、液中での表面改質が可能なので、基板上で異種細胞を配置したり、細胞間をつなげるチャンネルを形成したりする技術に応用できると考えている。

10. キーワード

- (1) システム細胞工学      (2) 液中試薬添加      (3) フェムト秒レーザー
- (4) 液中表面改質      (5)      (6)
- (7)      (8)      (裏面に続く)

11.研究発表（平成21年度の研究成果）

【雑誌論文】 計（ 5 ）件      うち査読付論文 計（ 5 ）件

著者名	論文標題			
K. Okano, Y.Maezawa, Y. Hosokawa, A. Kira, M. Mastubara, and H. Masuhara	In-situ arrangement of living cells on a fabricated surface by femtosecond laser			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2009: The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences	有	-	2009	pp1249-1251

著者名	論文標題			
Atsushi Kira, Kazunori Okano, Yoichiroh Hosokawa, Akira Naito, Koh Fuwa, Jyunpei Yuyama, and Hiroshi Masuhara	Micropatterning of perfluoroalkyl self-assembled monolayers for arraying proteins and cells on chips			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Applied Surface Science	有	Vol.255 (No. 17)	2009	pp. 7647-7651

著者名	論文標題			
岡野和宣, 于大衛, 廖奕翰, 前澤安代, 松井愛, 細川陽一郎, 松原美絵, 吉良敦史, 増原宏	フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
第10回（社）計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会論文集	有	09 SY 0013	2009	pp.1643-1646

著者名	論文標題			
岡野和宣, 前澤安代, 細川陽一郎, 松原美絵, 増原宏, 吉良敦史	フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems, IEE Japan	有	-	2009	BMS-09-17

著者名	論文標題			
吉良敦史, 不破耕, 岡野和宣, 細川陽一郎, 内藤晶, 増原宏	自己組織化単分子膜のパターニングで作製した基板をもちた三次元細胞培養の検討			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems, IEE Japan	有	-	2009	BMS-09-18

【学会発表】 計（ 13 ）件      うち招待講演 計（ 1 ）件

発表者名	発表標題	
松井愛, 前澤安代, 松原美絵, 細川陽一郎, 増原宏, 岡野和宣	フェムト秒レーザーを用いた液中プロセスによる細胞接着領域の作製と異種細胞の配置	
学会等名	発表年月日	発表場所
2010年春季 第57回 応用物理学関係連合講演会	2010年3月17-20日	東海大学（神奈川）

発表者名	発表標題	
岡野和宣, 于大衛, 前澤安代, 松井愛, 細川陽一郎, 松原美絵, 吉良敦史, 増原宏	フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続	
学会等名	発表年月日	発表場所
第10回計測自動制御学会 システムインテグレーション部門講演会	2009年12月24-26	芝浦工業大学(東京)

発表者名	発表標 題	
岡野和宣, 于 大衛, 前澤安代, 細川陽一郎, 松井 愛, 吉良敦史, 増原宏	細胞アレイ基板上でのフェムト秒レーザーを用いた個別細胞配置と細胞間接着誘起	
学会等名	発表年月日	発表場所
第32回日本分子生物学会年会	2009年12月9-12日	パシフィコ横浜 (神奈川)

発表者名	発表標 題	
吉良敦史, 岡野和宣, 細川陽一郎, 内藤 晶, 増原 宏	自己組織化単分子膜修飾とそのパターンニングによるチップ上での細胞配置および培養制御	
学会等名	発表年月日	発表場所
第82回日本生化学会大会	2009年10月21-24日	神戸国際会議場 (兵庫)

発表者名	発表標 題	
岡野和宣, 前澤安代, 細川陽一郎, 吉良敦史, 松原美絵, 不破 耕, 増原 宏	フェムト秒レーザーによる液中における細胞基板の表面改質と細胞間接合形成	
学会等名	発表年月日	発表場所
2009年秋季 第70回応用物理学会学術講演会	2009年9月8-11日	富山大学 (富山)

発表者名	発表標 題	
前澤安代, 細川陽一郎, 岡野和宣, 松原美絵, 増原 宏	フェムト秒レーザー誘起応力による細胞剥離過程: 細胞外マトリックスの可視化による解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
2009年秋季 第70回応用物理学会学術講演会	2009年9月8-11日	富山大学 (富山)

発表者名	発表標 題	
岡野和宣, 前澤安代, 細川陽一郎, 松原美絵, 増原宏, 吉良敦史	フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成	
学会等名	発表年月日	発表場所
平成21年度電気学会 センサ・マイクロマシン部門総合研究会	2009年7月23-24	東京工科大学 (東京)

発表者名	発表標 題	
吉良敦史, 不破耕, 岡野和宣, 細川陽一郎, 内藤晶, 増原宏	自己組織化単分子膜のパターンニングで作製した基板を用いた三次元細胞培養の検討	
学会等名	発表年月日	発表場所
平成21年度電気学会 センサ・マイクロマシン部門総合研究会	2009年7月23-24	東京工科大学 (東京)

発表者名	発表標 題	
Yasuyo Maezawa, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, Mie Matsubara, Hiroshi Masuhara	In situ cell detachment from a substrate by femtosecond laser-induced stress wave	
学会等名	発表年月日	発表場所
the 10th annual Conference on Laser Ablation (COLA 2009)	22-27 November 2010	Singapore (Singapore)

発表者名	発表標 題	
Kazunori Okano, David Yu, Ian Liau	Cell arrangement and connection of individual cells on a cell array platform by femtosecond laser	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 1st NCTU-NAIST Workshop on "Molecular/Nano Science	November 11-13, 2009	Hsinchu, Taiwan

発表者名	発表標題		
Yasuyo Maezawa, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, Mie Matsubara, Hiroshi Masuhara	"Fluorescence visualization of cell detachment process from a substrate by femtosecond laser "Tsunami"		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 1st NCTU-NAIST Workshop on "Molecular/Nano Science	November 11-13, 2009	Hsinchu, Taiwan	

発表者名	発表標題		
Ai Matsui, Yasuyo Maezawa, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, Mie Matsubara, Hiroshi Masuhara	Fabrication of cell-array platform by femtosecond laser process in culture medium		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 1st NCTU-NAIST Workshop on "Molecular/Nano Science	November 11-13, 2009	Hsinchu, Taiwan	

発表者名	発表標題		
K. Okano, Y. Maezawa, Y. Hosokawa, A. Kira, M. Matsubara, and H. Masuhara	In-Situ Arrangement of Living Cells on a Fabricated Surface by Laser Micro Tsunami		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences ( $\mu$ TAS 2009)	November 1-5, 2009	Jeju, Korea	

【図書】 計(0)件

著者名	出版社		
	書名	発行年	総ページ数

12. 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

13. 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。

--