

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 特定領域研究 4. 研究期間 平成20年度～平成21年度
5. 課題番号 2 0 0 3 4 0 6 1
6. 研究課題名 フェムト秒レーザーマイクロ津波による細胞配置技術と組織再構成チップ作成技術の開発
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
6 0 0 2 9 5 5 1	フリガナ マスハラ, ヒロシ 増原 宏	物質創成科学研究科	特任教授

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
2 0 4 4 8 0 8 8	フリガナ ホソカワ, 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
0 0 4 4 3 2 5 0	フリガナ オカノ, カズノリ 岡野 和宣	物質創成科学研究科	研究員
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

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。

細胞接着席を多数持つ細胞アレイ化基板上にフェムト秒パルスレーザーを用いて生細胞を配列する開発研究に関して、以下の成果を得た。

1) 細胞アレイ化基板： ガラス基板表面に周囲が細胞接着を阻害するパーフルオロアルキル単分子膜(R_f-SAM)でできた数10 μmの微小細胞接着席とそれらをつなぐ数 μm幅の矩形チャネルからなる構造の細胞アレイ化基板において、アミノシラン処理により細胞接着席とチャネル部分のみにアミノ基を導入した。その結果、基板の細胞接着席に細胞を選択的に接着するように改良できた。本基板にPC12を播種した後に分化誘導したところ、チャネルにそって神経様突起が成長して細胞同士があらかじめ設計した形にネットワークを形成した。本基板の適応範囲は接着力の弱い細胞から HeLa 細胞のような中程度の接着力を示す細胞であった。

2) 細胞配列技術： 集光照射が引き起こす局所応力（レーザー誘起マイクロ津波）で培養基板から標的細胞を剥離し、細胞アレイ化基板に配置することには昨年度成功している。本年度は、本法の細胞に与える影響をPC12細胞の分化誘導の観点で評価した。通常のトリプシンで剥離させる方法と比較したところ、両法の結果に差は見られず、トリプシン法では不可能な一細胞レベルの剥離と配置を低ダメージで行えるメリットがあることが示された。津波現象とは異なり、フェムト秒レーザーを基板内部に照射すると表面のR_f-SAM部分が変化し、細胞非接着表面が細胞接着表面に変化する。細胞接着席にPC12細胞を配置した後で細胞間ネットワークを形成するためのチャネル作成を培地中で試みたところ、あらかじめ基板上にチャンネル作成した前記基板と同様に、細胞間ネットワークを形成することができた。本法を用いれば細胞配置後に状態の異なる細胞を判断しながらネットワーク形成が可能であるので、細胞を空間的のみならず時間も考慮して細胞ネットワークを構築できる要素技術と位置付けている。

10. キーワード

- (1) システム細胞工学 (2) 組織再構成チップ (3) フェムト秒レーザー
- (4) _____ (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（4）件 うち査読付論文 計（4）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			
Yoichiroh Hosokawa, Seriya Iguchi, Ryohei Yasukuni, Yuji Hiraki, Chisa Shukunami, Hiroshi Masuhara	Gene Delivery Process in a Single Animal Cell after Femtosecond Laser Microinjection			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Appl. Surf. Sci	有	Vol. 255 (No. 24)	2009	pp.9880-9884

著者名	論文標題			
Atsushi Kira, Kazunori Okano, Yoichiroh Hosokawa, Akira Naito, Koh Fuwa, Junpei 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			
Guillaume Loutit, Tsuyoshi Asahi, Go Tanaka, Takayuki Uwada, Hiroshi Masuhara,	Spectral and 3-Dimensional Tracking of Single Gold Nanoparticles in Living Cells Studied by Rayleigh Light Scattering Microscopy			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
J. Phys. Chem. C	有	Vol. 113 (No. 27)	2009	pp.11766-11772

〔学会発表〕 計（31）件 うち招待講演 計（5）件

発表者名	発表標題	
平岡章宏, 飯野敬矩, 細川陽一郎, 古野忠秀, 岡野和秀, 萩山 満, 伊藤彰彦, 増原 宏	フェムト秒レーザー誘起応力波により刺激された細胞の応答評価	
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	
細川陽一郎, 飯野敬矩, 萩山 満, 岡野和宣, 伊藤彰彦, 増原 宏	原子間力顕微鏡によるフェムト秒レーザー津波の及ぼす局所応力測定システム 4-上皮細胞間の接着力測定-	
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	
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	
飯野敬矩, 細川陽一郎, 萩山 満, 伊藤彰彦, 岡野和宣, 増原 宏	フェムト秒レーザー誘起衝撃力による神経-マスト細胞間接着の力学的評価	
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	
飯野敬矩, 細川陽一郎, 増原 宏	フェムト秒レーザー誘起衝撃力が誘起する原子間力顕微鏡探針の過渡振動の解明	
学会等名	発表年月日	発表場 所
光・量子デバイス研究会	2010年3月5日	尾道商業会議所記念館 (広島)

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎, 飯野敬矩, 増原 宏	フェムト秒レーザーが水中に誘起する局所応力波の非接触計測	
学会等名	発表年月日	発表場 所
光・量子デバイス研究会	2010年3月5日	尾道商業会議所記念館 (広島)

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	
宇和田 貴之, 増原 宏, 楊 逸群, 廖 奕翰	共焦点レイリー散乱相関顕微分光装置による細胞内分子拡散の動的分光イメージング	
学会等名	発表年月日	発表場 所
第3回分子科学討論会	2009年9月21-24日	名古屋大学(愛知)

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	
細川陽一郎, 飯野敬矩, 萩山 満, 伊藤彰彦, 岡野和宣, 増原 宏	原子間力顕微鏡によるフェムト秒レーザー津波の及ぼす局所応力測定システム 3 -セル凝集アッセイとの比較検討-	
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	
細川陽一郎	基礎医学のためのフェムト秒レーザー衝撃力による異種細胞間の個別接着力評価	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
CREST講演会「光で拓く細胞から染色体の世界」	2009年8月20日	法政大学(東京)

発表者名	発表標 題	
細川陽一郎	AFMを用いたフェムト秒レーザー誘起局所衝撃力とそのバイオ応用	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
理研シンポジウム「階層横断生命科学-異分野融合的研究の新展開にむけて-」	2009年8月7-8日	理研 大河内記念ホール (埼玉)

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	
Chie Hosokawa, Mariko Suzuki, Takahisa Taguchi, Ai Kiyohara, Suguru N. Kudoh, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, HiroshiMasuhara	Micro-channel fabrication by femtosecond laser to arrange neuronal cells on multi-electrode arrays	
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 2009	Singapore (Singapore)

発表者名	発表標 題	
Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, Hiroshi Masuhara	Transient oscillation of AFM cantilever induced by femtosecond laser-induced stress	
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 2009	Singapore (Singapore)

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 2009	Singapore (Singapore)

発表者名	発表標題	
Yung-En Kuo, Cheng-Chi Wu, Yoichiroh Hosokawa, Yasuyo Maezawa, Kazunori Okano, Hiroshi Masuhara, Fu-Jen Kao	Femtosecond Laser-induced Stress on Live Myocyte Cells	
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 2009	Singapore (Singapore)

発表者名	発表標題	
Yoichiroh Hosokawa	Bio-Application of femtosecond laser-induced impulsive force: Elucidation of intercellular adhesion in physiological cultures	
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	
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	
Takayuki Uwada	Development of Rayleigh scattering microspectroscopy and its application to particle diffusion/assembling dynamics study	
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	
Akihiro Hiraoka, Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa, Tadahide Furuno, Kazunori Okano, Mitsuru Hagiyama, Akihiko Ito, Hiroshi Masuhara	A trial to reveal cell activity upon stimulation by femtosecond laser-induced stress wave: Fluorescence imaging of Calcium indicator in individual cells	
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		
Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa, Kazunori Okano, Hiroshi Masuhara	Quantitative analysis of femtosecond laser-induced impulsive force utilizing atomic force microscope for estimating intercellular adhesion strength		
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 (μ TAS 2009)	November 1-5, 2009	Jeju, Korea	

発表者名	発表標題		
Y. Hosokawa, H. Masuhara and A. Ito	Cell Detachment Induced by Femtosecond Laser "Tsunami" and the Force Estimation Using Atomic Force Microscope,		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 5th International Congress on Laser Advanced Materials Processing (LAMP2009)	June 29- July 2, 2009	Kobe, Japan	

発表者名	発表標題		
Hiroshi Masuhara and Yoichiroh Hosokawa	Femtosecond "Laser Tsunami" Manipulation for Single Living Cells in Solution		
学会等名	発表年月日	発表場所	
Spring Annual Meeting of the Korean Chemical Society, A Special Symposium of Physical Chemistry Division "Physical Chemistry for Biological Application"	2009 April 17	Seoul, 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。

<http://mswebs.naist.jp/LABs/masuhara/achievement.htm>