

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22年度～平成24年度
5. 課題番号

2	2	・	1	0	2	9	4
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 パルスレーザーを用いた光ピンセットによる細胞手術に関する研究
7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名		所属部局名		職名
								マエダ	サキ	情報科学研究科		特別研究員 (DC1)
								前田	紗希			

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。

[目的と実施計画予定] 本研究は、細胞内で光ピンセット操作を行いたいというニーズに応えるため、パルスレーザー光を光ピンセットのアシストに用いて操作する手法であるPulse-Laser-Assisted optical Tweezers, 通称 PLAT (プラット)を開発して細胞内での光ピンセット操作 (in vivo光ピンセット操作)を実現させ、細胞手術に応用できるような光ピンセット技術を開発することが目的である。実施計画では、平成23年度中に改良したPLATを用いて生細胞を利用した実験を行い、光ピンセット操作により生じたテザーの切断における操作可能性の評価と、細胞を破壊することなく操作を行う条件として、パルスレーザーの出力やパルス幅、その他の要因の再検討を行う予定であった。												
[進捗状況] これまでの研究では、パルスレーザーのパルス幅を伸長させることで PLAT 問題の解決を目指してきた。具体的には、パルス幅 150 μs のフラッシュランプ励起ロングパルスレーザーを用いた実験により、粒子取り外しの確率が格段に向上し、誘電破壊も抑制できることが分かった。また、このパルス幅 150μs のパルスレーザーを用いた PLAT が、粒子を用いた細胞操作に対して有用であることを確認するため、実際に細胞を用いて実験を行った。この実験の結果、従来の光ピンセットでは取り外すことのできなかった細胞表面に吸着した粒子を PLAT で取り外すことに成功し、その際細胞膜から発生するテザーからも粒子を解放できることを証明した。 そこで次に、細胞内部に取り込まれた粒子に対しても PLAT が有効であるかどうかを確認するための実験を行った。この結果、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた粒子を PLAT で抽出することに成功し、細胞内部の物体に対する操作にも PLAT が有効であるということを確認することができ、パルスレーザーの照射時間や出力から、細胞内部での操作に必要な力の指針も示すことができた。												

10. キーワード

(1) 光ピンセット	(2) パルスレーザー	(3) 細胞手術	(4) 光学
(5) PLAT	(6) in vivo 光ピンセット操作	(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、細胞手術の実現に向けて生体細胞へ適用実験を行い、細胞中の物体を外に取り出すことに初めて成功した。光によるメカニカルな効果で細胞の内容物を外部に取り出した例はこれまでになく、画期的な成果だと考えられる。前年度にも細胞実験を行っているが、この際は細胞の表面に付着した粒子を取り外す実験であり、本年度に細胞内部の実験に成功したのは大変おおきなインパクトであり、評価できると考えている。

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。

本研究ではパルスレーザーのパルス幅を伸長させることで PLAT の改良を行っているが、パルスレーザーのパルス幅がレーザーにより固定であるため、様々な長さのパルス幅のパルスを取得することが困難な状態にある。現時点で、6ns, 20ns, 160ns, 150μs のパルス幅をもつパルスでの実験を行ってきたが、細胞操作への応用には 150μs では長すぎ、160ns では短いことが分かってきている。そのため、1μs オーダーから 10μs オーダーのパルスによる実験を行うべき段階にあるが、そのパルス幅をもったパルスレーザーは市販されておらず、現状入手不可能である。この解決策としては、150μs のパルスを音響光学素子 (AOM) によりチョッピングすることで、適切な長さのパルスを取得する方法を考えている。現在の光学系に AOM を組み込み、タイミングよく Q スイッチを ON/OFF することでこれを実現する。今後は 1μs, 10μs のパルス幅をもつパルスを作成し、これらのパルスを用いて細胞に対する操作の実験を行っていく予定である。

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 (1) 件 うち査読付論文 計 (1) 件

著 者 名	論 文 標 題										
Saki Maeda, Tadao Sugiura, Kotaro Minato	Optical tweezers with assistance of sub-microsecond-duration pulse laser beam										
雑 誌 名	査読の有無		巻		発 行 年				最初と最後の頁		
Applied Physics Express	有		5		2	0	1	2	042701- 1 ~ 042701- 3		
掲載論文の DOI（デジタルオブジェクト識別子）											
10.1143/APEX.5.042701											

【学会発表】 計 (7) 件 うち招待講演 計 (0) 件

発 表 者 名	発 表 標 題		
前田 紗希	PLAT による in vivo 光ピンセット操作の実現		
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17日		早稲田大学

発 表 者 名	発 表 標 題		
前田 紗希	パルスレーザーのパルス波形による PLAT (Pulse Laser Assist optical Tweezers) への影響		
学 会 等 名	発表年月日		発 表 場 所
日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2011	2011年11月28日		大阪大学

発 表 者 名	発 表 標 題	
前田 紗希	ロングパルスレーザーを用いたPLAT (Pulse Laser Assist optical Tweezers) による細胞及び粒子操作	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第20回 バイオイメージング学会学術集会	2011年9月2日	千歳科学技術大学

発 表 者 名	発 表 標 題	
前田 紗希	PLATにおけるロングパルスレーザーのパルス波形の改良	
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	早稲田大学

発 表 者 名	発 表 標 題	
Tadao Sugiura	Pulse Laser Assist optical Tweezers (PLAT) with long- duration pulse laser	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
European Conferences on Biomedical Optics 2011	2011年5月23日	Munich

発 表 者 名	発 表 標 題	
前田 紗希	ロングパルスレーザーを用いたPLAT (Pulse Laser Assist optical Tweezers) による細胞操作	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第50回日本生体医工学会大会	2011年4月29日	東京電機大学

発 表 者 名	発 表 標 題	
Saki Maeda	Effect of pulse waveform in pulse laser assisted optical tweezers	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
Focus on Microscopy 2011	2011年4月19日	Konstanz

〔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w e b ページがある場合は、U R L を記載すること。

--