

フェムト秒レーザーによる 生物試料のマイクロサージェリー

イノベーションプラザ京都における育成研究 平成16年度採択課題

「フォトンクラフト技術を応用した生体適合型分子メスの開発」

代表研究者 京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻 教授

植田 充美



近年のバイオ研究，特にプロテオーム・メタボローム等のポストゲノム解析においては，対象生物の細胞や組織内部に，物理的損傷を与えないで微細加工を施す技術が必須である。本課題ではフェムト秒レーザー超微細加工技術を用い，生物試料内部の三次元超微細加工が可能な生体適合型メスを開発すると共に，生物試料への応用を試みて，様々なバイオへのアプリケーションの開拓を行った。

■ 研究内容，研究成果

本育成研究では，フェムト秒レーザー加工の有する様々な特徴，すなわち，低侵襲性，高透過性，高い空間分解能を生かした，世界で初めての生体試料用フェムト秒レーザー微細加工装置の開発に成功した。また，これを実際に生物科学者が研究に適用する際に参考となる実施例を蓄積すると共に，この過程において得られた新たな知見を，機器開発にフィードバックすることを目的として各種生物試料（植物，動物，微生物，培養細胞）に対する応用技術の開発を行った。まず，装置開発では，不均一で不定形の生体試料への加工に柔軟に対応でき，かつ照射対象の様子を見ながらインターラクティブに照射できる機構を開発した。また，ユーザーフレンドリーで自在な精密加工を実現するため，「Z軸位置を変化させた3次元レーザー加工」，「加工対象によって照射条件を自動で変更する機能」「顕微鏡の視野よりも広い領域の画像を

構築して表示・レーザー加工する機能」を可能にするソフトウェアの開発を完了した。応用例の蓄積では，熱損傷に非常に弱く，従来の加工機では組織の切り出しが困難なトチュウ（*Eucommia ulmoides* Oliver）の部位特異的サンプリングに成功した。また，水中のゼブラフィッシュ胚の内部組織を加工することにも成功し，開発機が組織表層のみならず，組織内部のディセクションにも対応できることを示した。さらに，適切な照射条件を設定することにより，酵母に代謝変異誘導をかけることが出来ることが新たに判明し，これまで通常の薬剤処理やUV照射などによって作出した変異体とは性質の異なる変異株を取得することに成功した。以上の成果は，専門誌に発表（JJAP, 46, 5859-5864, 2007）すると共に，機器の基本特許（特願2006-280135）および，応用技術特許（特願2006-346522）として出願した。

■ 今後の展開，将来の展望

本育成研究では，生物試料を極短パルスレーザーを用いて操作する装置と，これを用いた様々な先駆的応用技術を開発してきたが，これらは基本的に研究用途に用いられるいわば研究機器に分類されるものである。一方，細胞操作（変異誘導や細胞分別）を行える装置については，今後研究用途だけでなく，医療や製造業といった実用用途において，その需要が大きくなることが見込まれる。これまでの市場調査では，再生医療等に用いられる細胞分別装置関連のみで年間100億

円，さらに，10年後の市場では，約10倍に伸びると予想されている。そこで，育成研究終了後は，当初想定していた生細胞微細加工装置のみならず，前身機器とノウハウをベースに，新たに，高速かつ高精度で細胞への変異誘導と分別を達成する機器を開発し，産業あるいは実用用途に耐えるシングルセルマニピュレーターへと発展させることを今後の方針として想定している。

JSTプラザ京都育成研究の成果

生体適合型フェムト秒レーザー加工装置

(出願特許: 特願2006-346522, 特願2006-280135)

複雑な形状と分子組成を有する生物試料にサブセラーレベルで微細加工ができる **世界唯一の装置**

- ★ 熱損傷を受けやすい生物材料内部の加工
- ★ 細胞の単離・細胞内部の構造の切り出し
- ★ 変異誘導による代謝変動細胞の取得
- ★ ショックウェーブによる細胞操作



手に持ったナイフの感覚で生体試料のレーザー加工できる装置

部位特異的ポストゲノム解析、遺伝子機能解析、オルガネラ機能解析等の

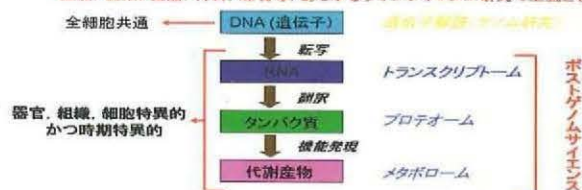
細胞機能・代謝研究の強力なツール!

図1 プロジェクト概要

ポストゲノムサイエンス研究のツール

-遺伝子機能や働きを解明し、生命の仕組みに迫る科学-

医療、製薬、食品、材料、環境等、あらゆるライフサイエンス研究で主流となる。



遺伝子機能の解明のためには、

位置的、時間的に限られた個々の細胞レベルでの情報取得が不可欠

個々の生細胞を対象とし、単離、刺激、捕捉、注入等の操作が行える装置が必要!

図2 開発の意義



図3 開発した装置



図4 シングルセルサンプリングの例

研究体制

代表研究者 京都大学大学院 農学研究科 教授 植田 充美

研究者 平尾 一之(京都大学), 木村 俊作(京都大学), 大塚 浩二(京都大学), 梶山 慎一郎(大阪大学), 福崎 英一郎(大阪大学), 近藤 昭彦(神戸大学), 田丸 浩(三重大学), 柳原 格(大阪府母子センター), 藤田 雅之(レーザー技術総研), 栃木 憲治(東京インスツルメンツ), 住吉 哲実(サイバーレーザー), 秦 洋二(月桂冠), 坂倉 政明(科学技術振興機構), 司 金海(科学技術振興機構)

共同研究機関 京都大学, 大阪大学, 神戸大学, 三重大学, (独)大阪府立病院機構大阪府立母子保健総合医療センター, (財)レーザー技術総合研究所, (株)東京インスツルメンツ, サイバーレーザー(株), 月桂冠(株), 積水化学工業(株)

研究期間

平成16年10月～平成19年9月