

戦略的創造研究推進事業
ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ

研究領域「医療に向けた自己組織化等の分子配
列制御による機能性材料・システムの創製」

研究課題「分子配列による蛋白モジュールの
開発と展開」

研究終了報告書

研究期間 平成 14年11月～平成20年3月

研究代表者： 徳永 史生
(大阪大学大学院理学研究科、教授)

1 研究実施の概要

中間評価におけるアドバイスを受け、グループ構成を含め、大胆に研究の絞込みを行った。したがって、以下、中間評価前と後に分け全体を記述する。

★中間評価前（H14年度～H17年度）

研究代表者ら研究グループは、これまで蛋白質レベルから細胞レベルまでの広い範囲で自己組織化メカニズムに関心を持って研究を進めてきており、本研究において自己組織化を制御・誘導するという新たな研究の展開をはかることを目指した。自己組織化のメカニズムの解明は、生体の多様な機能発現の理解につながり、生命現象そのものの解明にもつながる。蛋白質はナノスケールで機能しているものであり、蛋白質を基本骨格としている生体は、自己組織化されたナノマシンと言える。従って、自己組織化を制御できれば、人工的に新たな機能を持った組織の創製、すなわちナノソフトマシンの開発が可能になる。

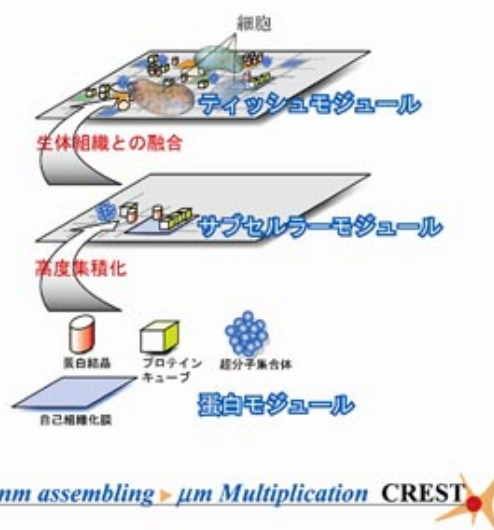
生体組織は特定の分子、分子集合体、細胞が特定の配置をすることによって形成されている階層構造を持って機能を発現している。そこで、本研究では、生体組織の人工的構築を目指し、細胞組織化の各階層をモデル化しモジュールを作製することを研究のコンセプトの中心に据えた。

これらモジュールとは、蛋白質をクラスター化した蛋白モジュール、蛋白モジュールを高度集積化したサブセルラーモジュール、サブセルラーモジュール上で蛋白や細胞が機能性組織として機能するティッシュモジュールである。これら全ての階層をレーザープロセッシング技術によりつなぎ分子制御を行い、ナノ自己組織化からマイクロ自己増殖を実現することを目指し、研究を進めた。

ここで最も重要な役割を果たすのが蛋白モジュールである。蛋白モジュールは、蛋白質や分子の自己組織化機構を利用し凝集させたクラスターである。この蛋白モジュールの形成過程において集光レーザービームによる光圧、ショック波、アブレーションを駆使し、自己組織化に摂動を与えることにより人工的な集合様式を持つ蛋白モジュールを形成する。これら蛋白モジュールの種類と配置を制御することによりサブセルラーモジュールを構築する。このサブセルラーモジュール上に細胞を培養することによりティッシュモジュールを作製する。

本研究では、蛋白モジュールをナノレベルからマイクロレベルで自在に操ることにより、生体組織に対応するティッシュモジュール、あるいは、新しい機能を発現するティッシュモジュールの構築を目指し、ナノ自己組織化からマイクロ自己増殖を実現することを標榜した。ティッシュモジュールが実現すれば従来の素子よりも高感度なバイオチップの開発が可能になり、再生医療などの領域において新産業創製につながると考えている。

本プロジェクトでは、各階層に対応するグループを作り、プロジェクトを遂行してきた。以下に、各グループと主要な成果を列挙する。



蛋白素子作製班

(佐々木グループ)

新たな蛋白質結晶化技術開発に成功し、平成 17 年 7 月に大阪大学発ベンチャー「株式会社創晶」を起業。平成 17 年度 CREST「タンパク質完全結晶創成」(研究代表：森勇介)へと発展。

(森肇グループ)

カイコのウイルス由来の蛋白質が作る多角体結晶を用いて、目的の蛋白質を遺伝子操作のみで固定化する技術が、後半の研究の基盤となる蛋白モジュールとして適していることを見出した。細胞への作用の点で重要なサイトカインの固定化を進めた。

モジュール作製班

(増原グループ)

レーザーマニピュレーション技術を利用したサブセラーモジュール、ティッシュモジュールの構築手法を検討し、レーザートラッピングによる蛋白質モジュールの配列、フェムト秒レーザー誘起衝撃波による単一細胞操作をはじめとする新手法提案に至った。

モジュール機能発現班

(徳永グループ)

(兼松グループ)

共同して研究を推進し、蛋白モジュールの機能発現の検証のための評価モデルとしてカルシウム結合蛋白質を用い、これを包埋した多角体において蛋白機能発現、すなわち構造変化を検証した。細胞増殖・分化時の細胞変化追跡のため、自家蛍光をターゲットとした分離手法の開発を行った。

細胞増殖誘導班

(開グループ)

森グループと共同で研究を推進し、NIH3T3 細胞と線維芽細胞増殖因子 FGF2 を固定化した蛋白モジュールの組み合わせにおいて、蛋白モジュールによる細胞増殖誘導の検証の検証に成功した。DNA 合成量の上昇も確認し、実際に、蛋白モジュールが細胞へ作用することを、はじめて明らかにした。

★中間評価後 (H18 年度～H19 年度)

中間評価の結果を受けて本研究では、蛋白モジュールとして多角体に焦点を絞り込み「多角体蛋白モジュールとレーザーマニピュレーションによる細胞・増殖分化の時空間的制御」に焦点を定めた。「(A) 多角体蛋白モジュールの機能発現」と「(B) 細胞の増殖・分化制御の新しい方式の提案」の二テーマに関する七つの個別課題について取り組んだ。当初目標を以下に掲げる。

(A) 多角体蛋白モジュールの機能発現

- 1) 多角体結晶に包埋された蛋白の機能発現評価 (森グループ、徳永・兼松グループ)
蛋白機能発現に関する、これまでの結果を発展させ、光受容蛋白、基質一酵素反応などに着目し、包埋蛋白の機能発現の制約条件とその解決法に関する検討を行う。
- 2) 包埋蛋白のダイナミクスの観測 (徳永・兼松グループ)
機能する蛋白の表面密度推定、蛋白ダイナミクスおよび外来分子の相互作用について、蛍光測定法に基づき評価を行う。
- 3) 多角体モジュールの物性評価 (森グループ)

結晶構造解析による多角体構造に関する知見に基づく研究を行う。包埋を担持する接着アミノ酸配列の構造決定を試みる。

- 4) 細胞増殖・分化制御多角体モジュールの評価（開・増原グループ、森グループ）
線維芽細胞増殖因子、FGF2をはじめ数種の因子を包埋したモジュールの活性を評価し、細胞増殖・分化制御を可能にする多角体モジュールのタイプの広がりを目指す。

(B) 細胞の増殖・分化制御の新しい方式の提案

- 1) FGF2 の軟骨分化モデル細胞系への作用の詳細研究（開・増原グループ）
すでに作用を確認している FGF2 は低濃度で効果がある因子であることが確認されており、FGF2 の分子レベルでの会合や細胞外マトリクスとの相互作用など、機能発現の条件に関する研究を進め、さらに他の増殖・分化因子を取り扱うための指針を得る。
- 2) 多角体モジュールパターンニング法の培養細胞系への適用最適化（開・増原グループ）
レーザーマニピュレーションおよびレーザーマイクロプロセスによる細胞と多角体モジュールの空間的パターンニング法を培養細胞系に適用し、細胞と多角体モジュールの空間的制御およびその相互作用について検討する。
- 3) 細胞増殖・分化のその場評価（徳永・兼松グループ）
開発済みの多重分光情報（励起スペクトル、時間プロファイル、蛍光スペクトル、光誘起変化等）イメージング装置を用い、自家蛍光と蛍光マーカーを併用して、細胞増殖・分化のその場評価を試みる。

7 項目の目標達成に向けて、現在もなお、研究は進行中である。後半の成果を、以下、グループごとに列挙する。

（徳永・兼松グループ）

多角体蛋白モジュールにおいて、包埋蛋白質は十分に運動の自由度を保持しており、機能性発現の基礎となる構造変化が可能であることを顕微時間分解蛍光分光によって明らかにした。また、細胞増殖・分化のその場評価に向け、細胞内外の生体関連分子の自家蛍光をターゲットとし、その消長や時間的・空間的挙動を追跡するイメージング法を開発した。これを適用して、植物の感染応答反応の追跡に成功した。

（森グループ）

結晶構造解析に基づき、多角体の立体構造を明らかにすることに成功した。立体構造情報に基づいて、三つの新たな蛋白質の固定化手法を開発した。また、固定化に成功していた 20 数種類のサイトカインを対象に、生理活性の検証を進めた。TGF α 、PDGF-B、IGF-1、BMP 4 で線維芽細胞への増殖促進を指標に生理活性を確認した。さらに、血管内皮細胞を用いて、二量体化により生理活性を示すとされる VEGF の活性を確認した。

（開・増原グループ）

FGF2 固定化多角体の細胞増殖と分化に関する詳細研究を行い、同多角体が、MAP キナーゼを経る FGF 受容体シグナルの活性化により惹起され、かつ特異的阻害剤により阻害される増殖促進活性を示すことを検証した。また、FGF2 固定化多角体と接触する空間的に限定された位置の細胞群のみが増殖応答を示すことを見出した。さらに、ヘパラン硫酸プロテオグリカンの存在化で、FGF2 が相互作用を通じて放出される特異な溶出機構を示唆する結果を得た。

細胞および多角体モジュールのフェムト秒レーザーを用いたマイクロパターンニング法の最適化を図り、パターンニングされた FGF2 固定化多角体上での細胞培養を実施し、培養パターンの制御可能性を検証した。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

★ 中間報告前(～H18. 3)

蛋白素子作製グループ

京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学科 (森 肇)

大阪大学大学院工学研究科電気工学専攻 (佐々木 孝友)

研究実施項目：シグナル因子である蛋白質の微結晶の作製

概要：シグナル因子である蛋白質の微結晶の作製を行う。方法としては、昆虫ウイルス由来の多角体結晶を用いる方法(森肇グループ)とレーザーによる蛋白質結晶化法(佐々木グループ)がある。この二種類の方法を駆使し、蛋白質モジュールの作製を行う。またこの手法を多様な蛋白質に用いる方法の開発を実施する。このことによりあらゆる蛋白質をモジュール化することが可能になると考えている。本プロジェクトの最も根幹をなすグループである。

モジュール作製グループ

大阪大学大学院工学研究科応用物理専攻 (増原 宏)

研究実施項目：光圧特有の蛋白質集合体の形成と配列制御およびレーザー操作による細胞・蛋白質の空間制御

概要：レーザーを用いた蛋白質モジュールならびに蛋白質の配列制御を行う。レーザーを用いた細胞・蛋白質の空間制御を行う。これら技術によりナノ自己組織化からマイクロ自己増殖への道を切り開けると考えている。本プロジェクトのモジュールという概念の階層構造を結びつける重要な役割を担うグループである。

モジュール機能発現グループ

大阪大学大学院理学研究科宇宙・地球科学専攻 (徳永 史生)

大阪大学ベンチャービジネスラボラトリ (兼松 泰男)

研究実施項目：モジュールの高度な機能評価

概要：レーザーによる観測技術開発を行い、蛋白モジュール、サブセルラーモジュールの高度な機能評価を行う。本プロジェクトの自己組織化制御ならびにマイクロ自己増殖制御のメカニズム解明を担うグループである。

細胞増殖誘導グループ

京都大学再生医科学研究所・生体分子設計学分野 (開 祐司)

研究実施項目：マイクロ自己増殖誘導

概要：細胞のマイクロ自己増殖をサブセルラーモジュール上で行う。このことによりナノ自己組織化を利用したマイクロ自己増殖を完了させる。本プロジェクトの最終的な成否を左右する細胞増殖・分化への展開を担うグループである。

★ 中間報告後(H18. 4～)

徳永・兼松グループ

大阪大学大学院理学研究科 宇宙・地球科学専攻 (徳永史生)

大阪大学先端科学イノベーションセンター

ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー部門 (兼松泰男)

研究実施項目：レーザー分光法による多角体および細胞増殖・分化の評価

概要：多角体蛋白モジュールにおいて、機能する蛋白の表面密度推定、蛋白ダイナミクスおよび外来分子の相互作用の評価を、蛍光相関測定、回転緩和測定、過渡消光測定などの蛍光測定法により実施する。また、多重分光情報（励起スペクトル、時間プロファイル、蛍光スペクトル、光誘起変化等）イメージング装置を用い、自家蛍光と蛍光マーカーを併用して、細胞増殖・分化のその場評価を試みる。

森グループ

京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学科 (森 肇)

研究実施項目：多角体モジュール作製および評価

概要：多角体結晶の立体構造が明らかになった。この立体構造情報を基に新規外来蛋白質の固定化法の開発、ならびに多角体自身の性質の改善を目指した変異体作製を行う。外来蛋白質として細胞増殖因子などのサイトカインを標的として、多角体ライブラリを作製し、細胞に添加し、シグナル伝達を観察することにより多角体の機能評価を行う。

開・増原グループ

京都大学再生医科学研究所・生体分子設計学分野 (開 祐司)

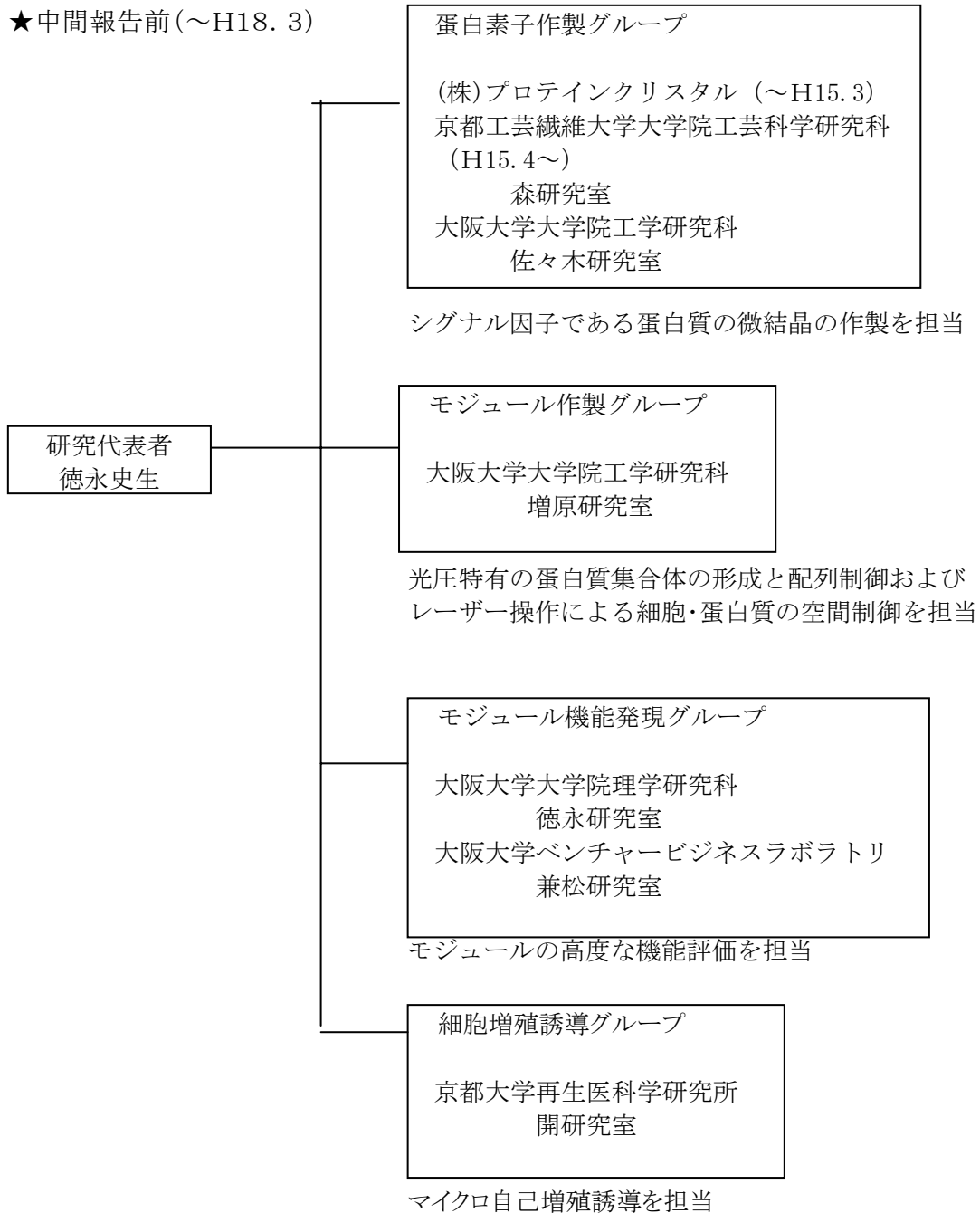
財団法人 濱野生命科学研究財団 21 生命科学研究所 (増原 宏)

研究実施項目：細胞増殖・分化制御とレーザーマニピュレーション・マイクロプロセスの適用

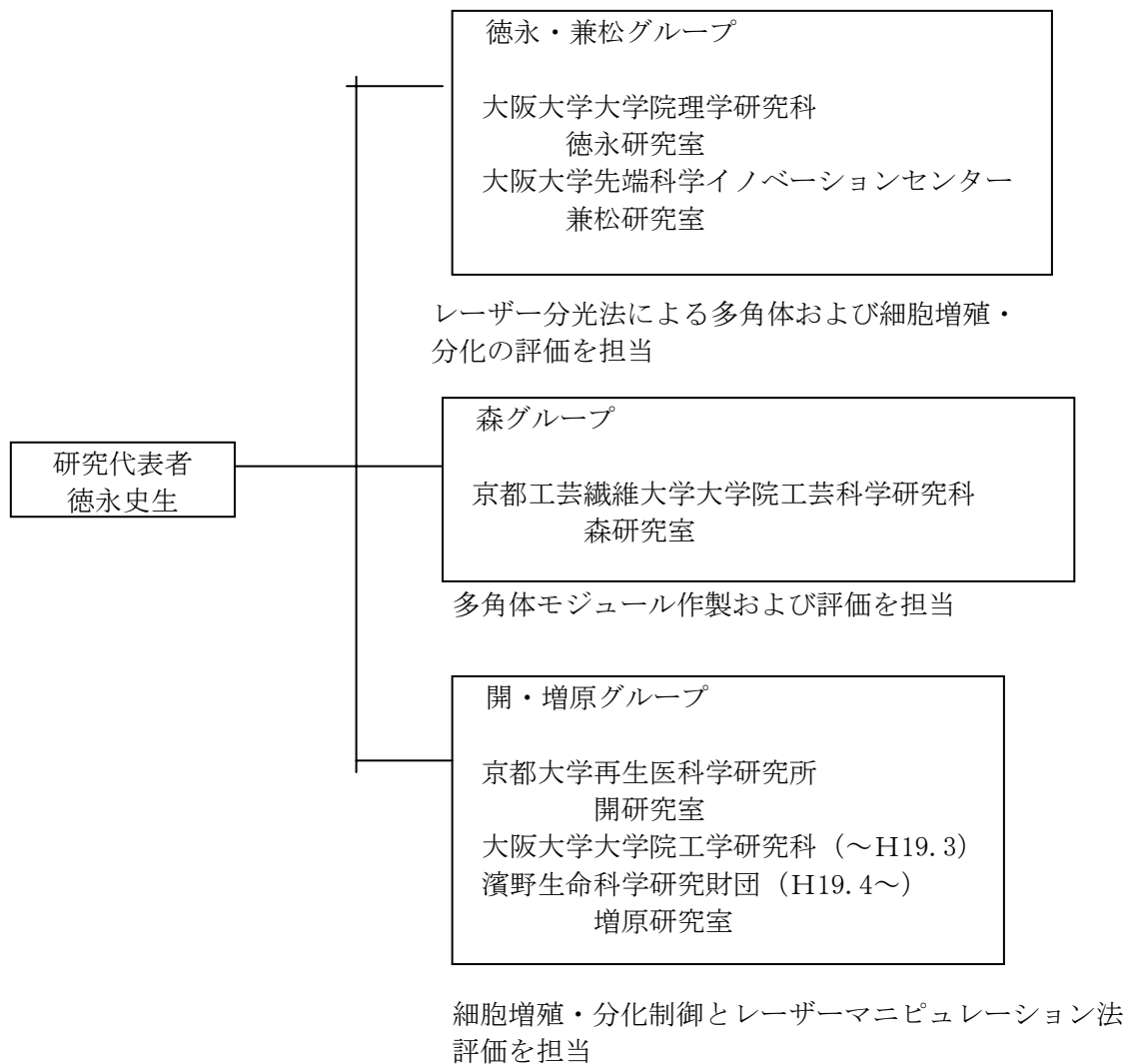
概要：FGF2 の軟骨分化モデル細胞系への作用を対象として、分子量、会合、細胞外マトリクスとの相互作用など、機能発現の条件に関する研究を進め、さらに他の増殖・分化因子を取り扱うための指針を得る。また、レーザーマニピュレーションおよびレーザーマイクロプロセスによる細胞と多角体モジュールの空間的パターンニング法を培養細胞系へ適用し、細胞と多角体モジュールの空間的制御およびその相互作用について検討する。

(2)実施体制

★中間報告前(～H18. 3)



★中間報告後(H18. 4～)



3 研究実施内容及び成果

★ 中間評価前（H14年度～H17年度）

3. 1 蛋白質の微結晶作製

（大阪大学 佐々木グループ/京都工芸繊維大学 森グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

本プロジェクトは、蛋白質の機能を集積させた「蛋白モジュール」を配列し、細胞などを作用させることによりその増殖・分化を制御し、生体における階層構造構築原理の解明とその測定手法を開発することを目的としてスタートした。蛋白素子作製グループは、本プロジェクトの根幹部分である「蛋白モジュール」作製ならびに「蛋白モジュール」としての機能評価も併せて行ってきた。まず蛋白モジュールに求められる必要条件是、

1. 簡便に取り扱えること
2. 大量生産・精製が可能であること
3. 環境変化に強いこと

などが挙げられる。我々の研究グループでは、蛋白質機能を集積する目的での蛋白質の結晶化・固定化を念頭に置き、「蛋白モジュール」開発を始めた。

その中で佐々木グループは、新しい蛋白質の結晶化技術開発に成功した。

図1. に佐々木グループが開発してきた蛋白質結晶化技術を示す。

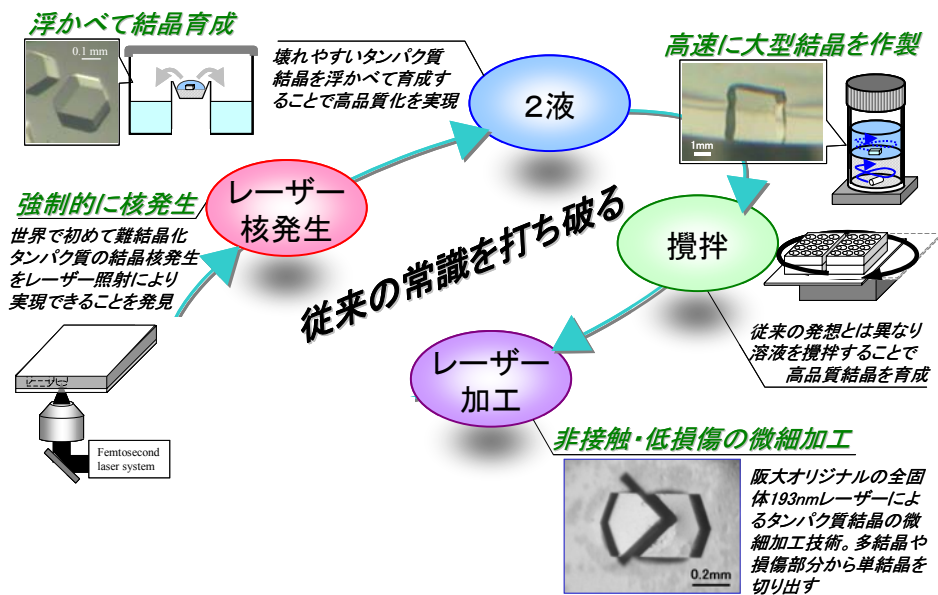


図1. 佐々木グループが開発した結晶化技術

- A. 増原グループの協力のもと、フェムト秒レーザー照射による核発生により、低過飽和溶液中で強制的に結晶化させる。本手法により、他の結晶化方法よりも効率的に蛋白質の結晶化を誘起できる。
- B. 結晶核の発生後、溶液状態制御の一つである溶液攪拌技術を用いることにより、高品質かつ大型蛋白質結晶を育成する。所望の結晶サイズ、結晶品質や個数などを満たすために、溶液攪拌条件を最適化する。
- C. 得られた結晶を取り出しやすくするため、2液法を適応する。この方法は比重差と不溶性を利用した結晶育成法であり、結晶を2液界面に浮かべながら成長させる。この方法を用いることで、通常は困難である種結晶育成を行うことが可能であり、より大型の結晶を育成することが容易になる

これら技術は、創薬などの分野にとって利用価値は高く、産業利用を推進するために、平

成 17 年 7 月に大阪大学発ベンチャー「株式会社創晶」を起業した（社長：安達宏昭、取締役：佐々木孝友、森勇介）。製薬メーカーなどから結晶化を受託するビジネスを現在も展開している。また、これら革新技術の高度化と更なる新規結晶化技術の開発を行うため、平成 17 年度の CREST に申請したところ、「タンパク質完全結晶創成」（研究代表：森勇介）が採択された。

一方、森グループでは、カイコのウイルス由来の蛋白質が作る多角体結晶を用いて、目的の蛋白質を遺伝子操作のみで固定化する技術開発を行っていた。この技術はプロジェクト開始当初から森らによって確立されており、あとは、固定化された蛋白質が生理活性を有した状態で固定化されているかを検証する最終段階まで研究は進んでいた。森グループの蛋白質固定化法を簡単に説明する（図 2）。

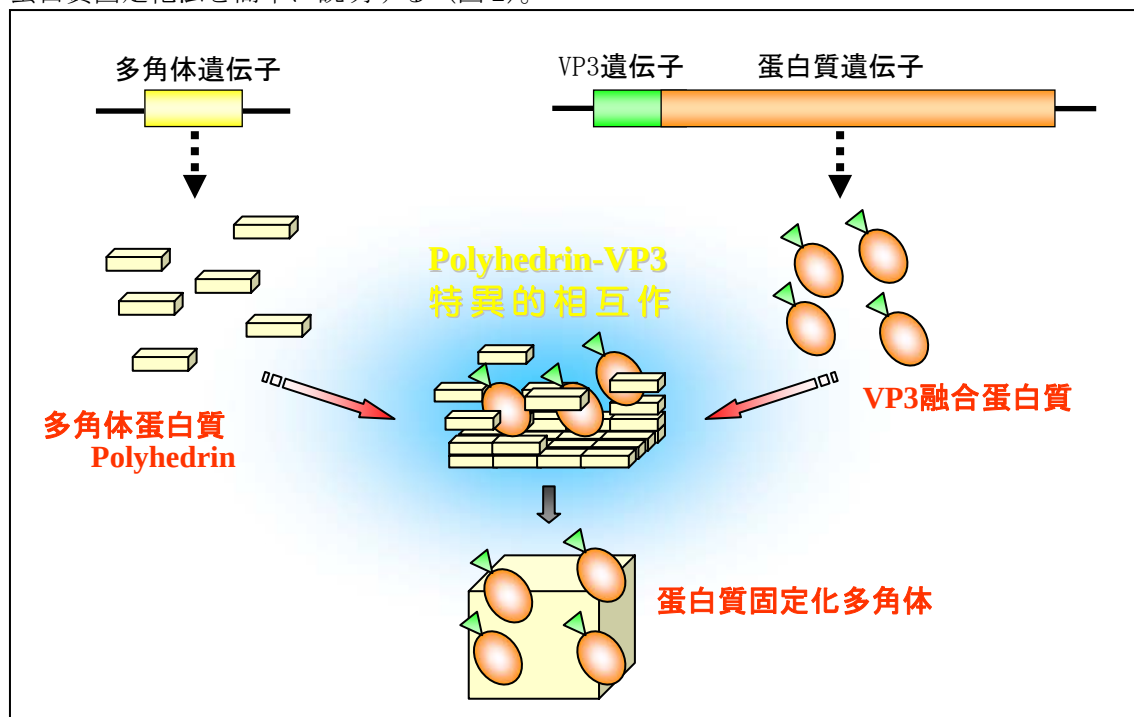


図 2. 森グループが開発した外来タンパク質固定化法の概略

多角体蛋白質を作る遺伝子がポリヘドリン遺伝子であり、この遺伝子と多角体固定化シグナル（VP3）に目的の蛋白質の遺伝子を融合させたものを遺伝子操作により作製し、ウイルスとして昆虫細胞に二重感染させる。すると昆虫細胞内においてポリヘドリン蛋白質と多角体固定化シグナル（VP3）が付いた目的蛋白質が発現し、ポリヘドリンは昆虫細胞内で自発的に多角体結晶となる、この際固定化シグナルが付いた目的蛋白質は多角体に固定化され、蛋白質が固定化された多角体結晶として産出される。図 3 に GFP を固定化した多角体を示す。a.が、明視野像、b.がその蛍光像である、GFP による蛍光が確認された。

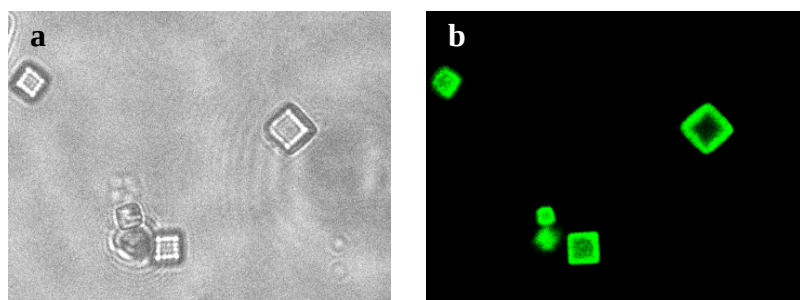


図 3. GFP 固定化多角体の a.明視野像、b.蛍光像

森グループでは、本プロジェクトの目的である細胞へ作用できる「蛋白モジュール」を作製するためにサイトカインに焦点を絞り、20種類のサイトカインを固定化した多角体の作製を進めた（表1）。

サイトカインファミリー		
クラス I ファミリー		IL-6 LIF
ケモカインファミリー		CXCL12
TNFファミリー		TNF- α
TGFファミリー	TGF β ファミリー	TGF β 2 TGF β 3
	BMPファミリー	BMP-4 BMP-7 GDF-1 NO
増殖因子ファミリー	PDGFファミリー	PDGF-A
	EGFファミリー	TGF- α
	IGFファミリー	IGF-1 IGF-2
	FGFファミリー	FGF-1 FGF-5 FGF-7
	VEGFファミリー	VEGFB VEGFC VEGFD PGF

表1. 多角体への固定化に成功したサイトカイン

一方、固定化蛋白質の機能解析を進めるために分光学的測定により活性確認ができることが知られていた S-モジュリンを固定化した多角体や、蛍光蛋白質などを固定化した多角体も作製した。S-モジュリンについては、顕微蛍光観察装置を開発し測定した結果、構造変化由来の変化が確認されている、これは、蛋白モジュール機能評価班・兼松グループのページに詳細報告がなされている。細胞への作用については開グループにその詳細報告がされているが、簡単に FGF2 の結果について触れておく。

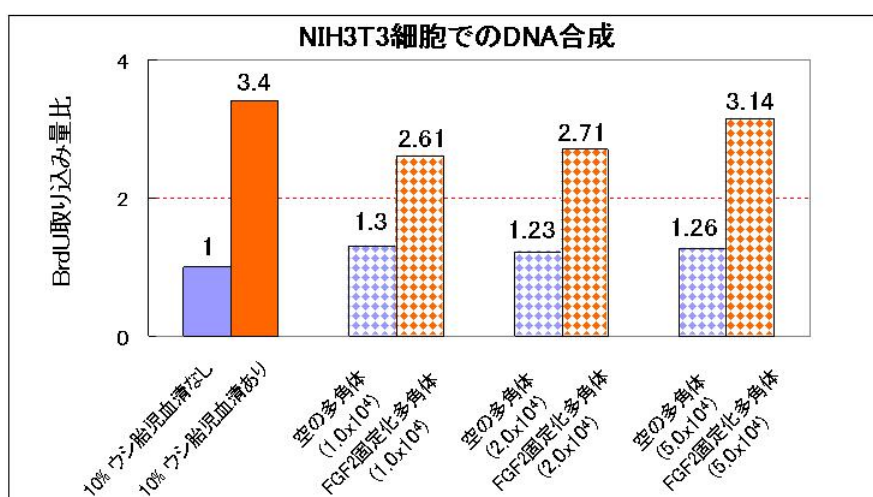


図4. FGF2 固定化多角体による細胞増殖実験（BrdU 取り込みによる検定）

FGF2（Fibroblast Growth Factor）は、線維芽細胞増殖因子であり細胞増殖を強力に誘導する因子として知られている。この FGF2 を多角体に固定化し、細胞に作用させ細胞増殖が誘導されるかどうか検討することによって固定化された蛋白質の生理活性を液性因子の場合

と比較検証した。BrdU の取り込み実験を実施し、細胞増殖の様子を調べた。多角体固定化 FGF2 添加細胞群の DNA 合成量は対照区の細胞群の 3 倍近く上昇していることが確認された (図 4)。BrdU の取り込み実験では多角体固定化 FGF2 の添加量に dose response の傾向が見られた。この検定では空の多角体を添加した細胞群でも若干の DNA 量の増加や DNA 合成量の上昇が見られたが、多角体固定化 FGF2 添加細胞群の増加・上昇と比較するとその DNA 量や DNA 合成量の変化はわずかであった。さらなる検証を開グループと進め、固定化された FGF2 の生理活性のみならず多角体からの徐放性という多角体の新しい性質も確認できた。詳細は中間評価後の開・増原グループの報告にある。

以上のように研究を進めてきたが、「蛋白モジュール」としては、佐々木グループの蛋白質結晶は、細胞に作用させるという点でハードルが高い。一方、多角体では上記 FGF2 の結果が示すように実際に細胞に作用させることもでき、冒頭で述べた必要条件をほぼ満たす。中間評価においても「蛋白モジュール」としては、多角体が最適であり、研究の重心を多角体へ集中させ研究を進めるようご指導いただいた。

(2) 研究成果の今後期待される効果

蛋白質結晶化技術については、安達博士が中心となりベンチャー企業「創晶」を興し産業応用を目指し、現在も発展を続けている。さらに佐々木グループの森勇介教授が研究代表者となり CREST の別プロジェクトとしての進展も見た。多角体については、現在も研究が続いており、中間評価後のパートの後半部分で述べたい (★中間評価後 3.2 森グループ部)。

3. 2 レーザー操作による細胞・蛋白質の空間制御 (大阪大学 増原グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

レーザーマニピュレーション技術を利用したサブセラーモジュール、ティッシュモジュールの構築手法を検討し、新手法提案に至った。さらに、フェムト秒レーザー技術を利用することにより、蛋白質の結晶化を効率的に行うことに成功し、そのメカニズム解明を進めた。その主な成果を下記の小目に示す。

A. レーザートラッピングによる蛋白質モジュールの配列

レーザートラッピングでは水中で非破壊に蛋白質多角体結晶を操作できるため、蛋白質を失活させることなく、配列することができる。我々は、フェムト秒レーザーを用いて基板であるポリスチレンを改質し、そこで多角体結晶を一粒ずつ固定化する技術の確立に至った。さらに、基板材料として光重合性の樹脂を利用した方法でも、多角体を固定することに成功している。また、デジタルミラーデバイスを利用し、顕微鏡下で高強度の近赤外レーザーを多点に集光し、複数の粒子を同時に捕捉するレーザートラッピング技術の確立にも至っている。

B. フェムト秒レーザー誘起衝撃波による単一細胞操作

高強度のフェムト秒レーザーを細胞培養液に集光すると、その集光点で爆発的な形態変化に至り、その周囲に衝撃波やキャビテーションバブルの発生に伴う力学的な力が伝搬する。我々は、この力を利用することにより、蛋白質の結晶化を促進することに成功し、さらには単一レベルの細胞を非破壊に操作する技術の開発に至った。前者の結晶化については佐々木グループにその報告がある。このフェムト秒レーザーによる力は、レーザートラッピングによる力の一万倍以上と見積もられており、レーザートラッピングでは困難な上記の単一細胞操作の実現に至っている。

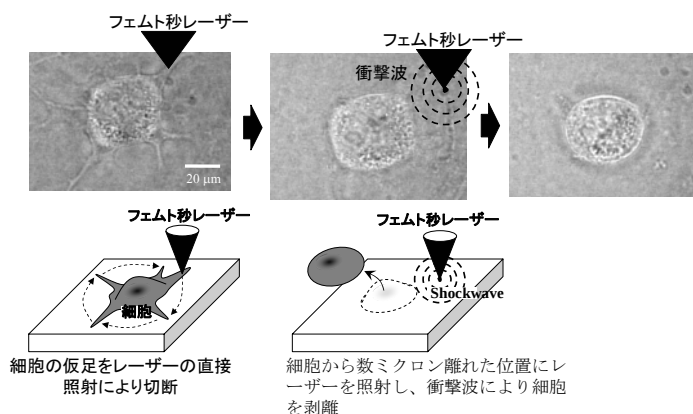


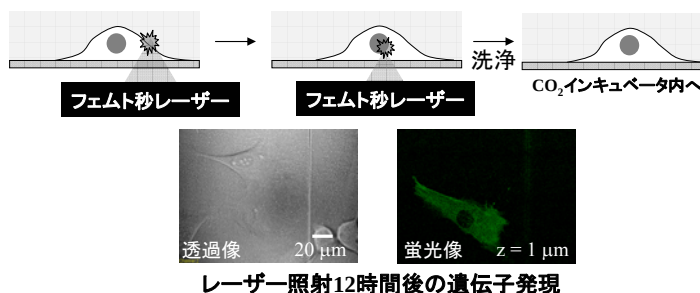
図5 フェムト秒レーザーによる NIH3T3 細胞の非破壊剥離

図5にこの力を利用して基板に接着した体細胞を、細胞単位で生きたまま引き剥がし、移動させることに成功した例を示す。このような接着細胞を非破壊に操作する方法は、我々の知る限り他にない。血中細胞以外の体細胞は、細胞もしくは細胞外マトリックスと接着しており、特定の体細胞の抽出、体細胞の細胞間相互作用を調べる上での有効な方法として、期

待が集まっている。さらに集光フェムト秒レーザーにより発生した衝撃波を利用することにより、レーザートラッピングでは捕捉できない大きな粒子を捕捉し、操作する技術の確立に至っている。

C. フェムト秒レーザーによる単一細胞への遺伝子導入

細胞に対して、フェムト秒レーザーを集光することにより、細胞を破壊することなく、細胞の内外に数ミクロンの微小な破壊を誘起できることを見だし、それを細胞外の異物質を細胞内に導入する技術として応用することに成功した(特開2005-168495)。この方法により、特定の単一細胞に対して、遺伝子や蛍光色素などを特異的に注入することに成功した。



レーザ照射12時間後の遺伝子発現

図6 フェムト秒レーザーによる NIH3T3 細胞への EGFP プラスミドの導入

さらに、細胞核に対して選択的に遺伝子を導入することも確かめられ、図6に示すように特定の細胞に対して遺伝子の発現を促すことに成功した。

D. フェムト秒レーザー衝撃波による蛋白質および有機分子の結晶化

集光フェムト秒レーザーにより誘起される非線形現象を摂動として、有機分子および蛋白質を結晶化できることを発見した。図7に示す代表例(卵白リゾチームの結晶化)のように、フェムト秒レーザーを照射したところで結晶化を促進することができた。さらにこの手法により、結晶の成長を制御できることも見い

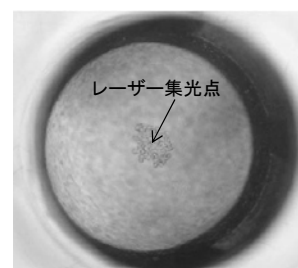
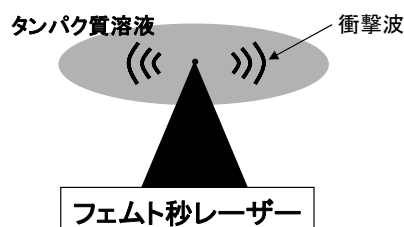


図7 フェムト秒レーザーによる卵白リゾチームの結晶化誘起

だしている。これらの現象に関するメカニズムについて検討した結果、フェムト秒レーザーが過飽和溶液に誘起する非熱的な形態変化が重要な役割を果たしていることをつきとめた。佐々木グルー

プでは、この手法を用いて、これまで結晶化の困難であった膜蛋白質や RNA 修飾酵素複合蛋白質の結晶化にも成功しており、蛋白質の結晶育成技術に革新をもたらしている。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究により、顕微鏡下で集光したレーザーを用いることにより、単一レベルの細胞および蛋白質を高度に制御できることが示された。これらの技術は、細胞レベルで深い理解に及んでいるバイオテクノロジーのための新しい微細制御技術として高く評価されており、生物・医学系の研究者との多くの共同研究の成立に至っている。特に、上記Dのフェムト秒レーザーによる結晶化誘起に関する研究が足がかりとなり、新しいCREST研究「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術(総括 柳田敏雄):タンパク質完全結晶創成(代表 森勇介)」が立ち上がった。

本研究で確立した要素技術は、生体の機能を最小レベルで模したサブセルラーモジュール作製のための要素技術としての価値は高い。プロジェクト後半では、これらの技術をさらに発展させ、実地的なバイオチップの作製技術として高められた。

3.3 蛋白モジュールの機能評価(大阪大学 徳永グループ、兼松グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

当グループでは、「(a) 蛋白モジュールの機能発現の検証」、蛋白モジュールの作用により引き起こされる細胞応答を観測するための「(b) 細胞増殖・分化時の細胞変化の追跡手法の開発」、さらにこれらと並行して、光による機能発現評価・制御を目指して、「(c) 光受容蛋白質および光応答性生体分子のダイナミクスに関する研究」を行った。以下、各項目について詳細を記述する。

(a) 蛋白モジュールの機能発現の検証

蛋白モジュールの機能発現を分光学的手法により検証する。多角体結晶に包埋された蛋白質が通常の蛋白質と同様に機能を発現することができるのかどうかを明らかにすることが蛋白モジュールとしての機能検証につながる。

評価モデルとしてカルシウム結合蛋白質S-モジュリンを包埋した多角体を用いて、カルシウム添加による構造変化を紫外蛍光により評価した。S-モジュリンは、カルモジュリンやリカバリンと同種の蛋白質でEF-ハンドと呼ばれる構造モチーフを持ち、蛋白質がカルシウムと結合することでこのEF-ハンド部分に構造変化生じ、活性型となる。その際、蛋白内部に埋もれていたミリストイル基が露出し、疎水環境から親水環境へと変化することで、ミリストイル基近傍のトリプトファン残基の光学特性が変化する。したがって、S-モジュリンの構造変化はトリプトファン残基の蛍光スペクトルの長波長シフトによって確認することができる。多角体に包埋した蛋白質が構造変化可能であるかどうかは、蛋白モジュールとしての有用性を評価する上で極めて重要な点であり、S-モジュリン包埋多角体は優れた評価モデルとなり得る。

多角体にS-モジュリンを包埋し、その分散溶液に対して紫外蛍光測定を行った。カルシウム添加によって、S-モジュリン溶液で見られるような大幅な蛍光スペクトルシフトは観測されなかったが、小さなサイズの多角体分散溶液において、わずかなスペクトルシフトが観測された。多角体を構成しているポリヘドリン蛋白質にもトリプトファン残基が存在することから、S-モジュリンの構造変化にともなう蛍光スペクトルシフトは見かけ上、小さくなることが予想される。また、サイズの小さな多角体分散溶液においてのみスペクトルシフトが観測されたことから、多角体表面近傍のS-モジュリンのみが構造変化可能であることが推測される。より詳細に検証するため、プロジェクト後半では共焦点紫外蛍光顕微鏡を構築し、空間分布も含めて評価した。

(b) 細胞増殖・分化時の細胞変化の追跡手法の開発

蛋白モジュールによって誘起された細胞応答を非侵襲的に観測する手段として、細胞内や細胞外マトリックスに存在する生体関連分子の自家蛍光をメインターゲットとして、その消長や時間的・空間的挙動を追跡する。細胞内や細胞外マトリックスには、芳香族アミノ酸、コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリックス構成成分、電子伝達系の補酵素群、二次代謝産物など、近紫外領域に光吸収をもつ成分が多く存在し、それらは自家蛍光として観測される。したがって、自家蛍光をメインターゲットとして、それらの消長や時間的・空間的挙動を追跡するには、成分分離に特化したイメージングシステムの開発が不可欠である。

われわれは、蛍光に関する多くのパラメータ（蛍光スペクトル、励起スペクトル、時間分解スペクトル）を効率よく取得できる分光システムを構築した。可視・近紫外領域での広帯域超短パルス光発生と高速ゲート付 ICCD との組み合わせにより、 20×640 ピクセルの時間分解励起・蛍光スペクトルマップ（時間分解能 200 ピコ秒）を数ミリ秒で取得することが可能となった。さらに色素混合溶液を用いた予備的実験において、得られた蛍光多元要素データに対して差分および特異値分解を適用することにより、精度の高い成分分離に成功した。

(c) 光インターフェース素子としての光受容性蛋白質研究

各モジュールにおける状態を監視・制御するインターフェースとして、利用しやすい手法のひとつが、光応答あるいは光制御である。光受容蛋白質は光吸収により、構造変化、電子移動やイオンポンプなどの機能を発現する。また、遺伝子工学的手法により、分光特性やダイナミクスのコントロールが可能である。したがって、光受容蛋白質は適切なタイミングで状態変化を引き起こしたり、状態変化を監視したりするための分子素子として、モジュール技術への潜在的な活用可能性を秘めている。この分野での従来からの蓄積をもとに、スペクトルチューニング、ダイナミクスコントロール、相互作用制御を検討した。

Photoactive Yellow Protein (PYP) を対象として、アミノ酸残基変異の導入、発色団の置換を行い、スペクトルチューニングや光誘起構造変化のカイネティクス制御に関する知見を得た。さらに PYP は、暗状態では表面が親水的で、光励起後の構造変化により疎水的に変化することが知られている。この光励起による物性変化を見積もるために、蛍光スペクトルによる相互作用解析を試みた。疎水環境プローブとしてよく知られている ANS (1-anilinonaphtalene-8-sulfonate) を PYP と混合し、光照射による蛍光スペクトル変化を測定した。その結果、図 8 のように蛍光スペクトルに大きな変化が観測された。これは、蛋白質の表面の物性変化、親水から疎水への変化を示唆するものである。実際、疎水カラム内の PYP の移動を光により制御することに成功した。

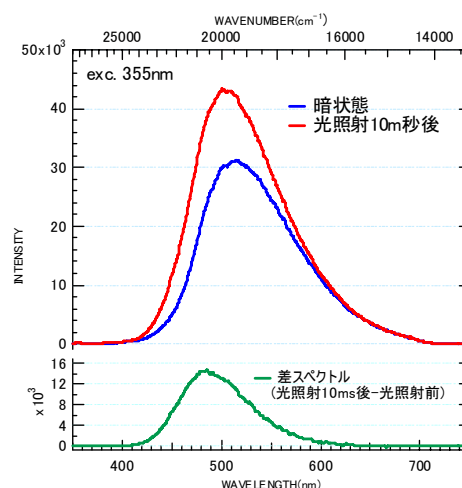


図 8. 疎水プローブ導入時の光照射前後の蛍光スペクトル変化

(2)研究成果の今後期待される効果

光照射による光受容蛋白質の親水・疎水変化は、細胞が疎水面を好んで接着を行うという性質を利用することで、細胞接着パターン制御への展開が期待できる。有機分子を用いた場合、光照射時の副産物に細胞毒性がある場合も多い。光受容蛋白質を用いることで、毒性の回避とともに、ダイナミックなパターンニングへの可能性が開ける。

3. 4 マイクロ自己細胞増殖誘導（京都大学 開グループ）

(1)研究実施内容及び成果

開グループでは、蛋白モジュールあるいはサブセルラーモジュールを用いた細胞増殖・分化制御に向けた取り組みを行ってきた。研究前半部分では、光制御による細胞培養用基盤開発（モジュール機能発現グループ）やレーザーを用いた細胞マニピレーション（モジュール作製グループ）など、他グループとの連携を積極的に進め、蛋白モジュール、サブセルラーモジュール候補の絞り込みに貢献してきた。その中で、研究後半部分に「蛋白モジュール」候補として、森グループが提案した多角体が細胞増殖を誘引できることを立証した。この成果により、中間評価後の研究の絞り込みが実現した。

開グループでは、森グループと共同で細胞増殖因子 FGF2 を固定化した多角体を用いた細胞増殖実験を行ってきた。その結果、多角体を用いて細胞増殖を誘引できることが分かった（★中間評価前 3.1 森グループ図 4.）。多角体固定化 FGF2 添加によって誘導された NIH3T3 細胞の増殖誘導が、多角体という蛋白質構造物による物理的刺激に誘導されたものなのか、固定化されている FGF2 の促進活性によるものなのかを検討するために MAP kinase のリン酸化を調べた。

多角体固定化 FGF2 による NIH3T3 細胞での MAP kinase のリン酸化

Hoechst 33258 を用いた DNA 量測定実験および BrdU の取り込み量を測定した DNA 合成量測定実験で確認された細胞増殖促進活性（図 4（P11））が、図 9 に示す古典的 MAPK カスケードの活性化に働いていることを示すために MAP kinase のリン酸化を調べた。MAP kinase のリン酸化の実験では、1 ng/ml の市販の FGF2 を添加した場合と同様に、多角体固

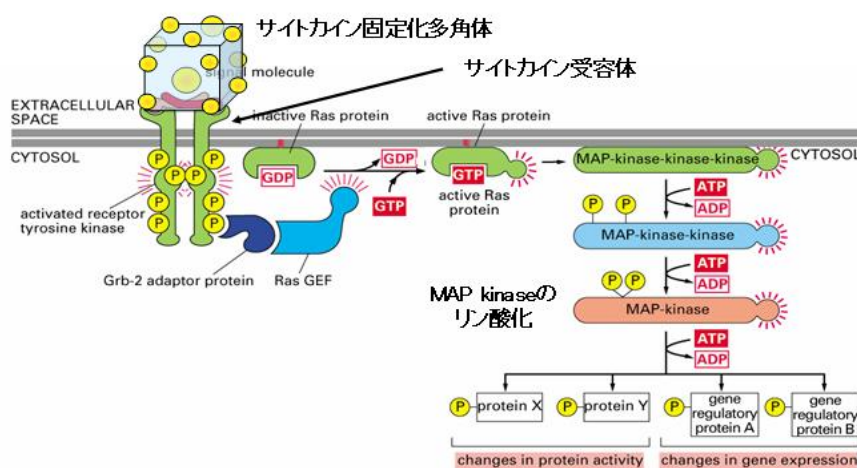


図 9 受容体から MAP kinase までのカスケード

定化 FGF2 を添加した細胞でも MAP kinase がリン酸化（Phospho p44/p42 MapK のバンドの出現）されていることを確認することができた（図 10）。一方、空の多角体を添加したサンプルでは MAP kinase のリン酸化は全く確認されなかった。また、この多角体固定化 FGF2 による MAP kinase のリン酸化は阻害剤 SU5402 で期待されたとおり阻害された。

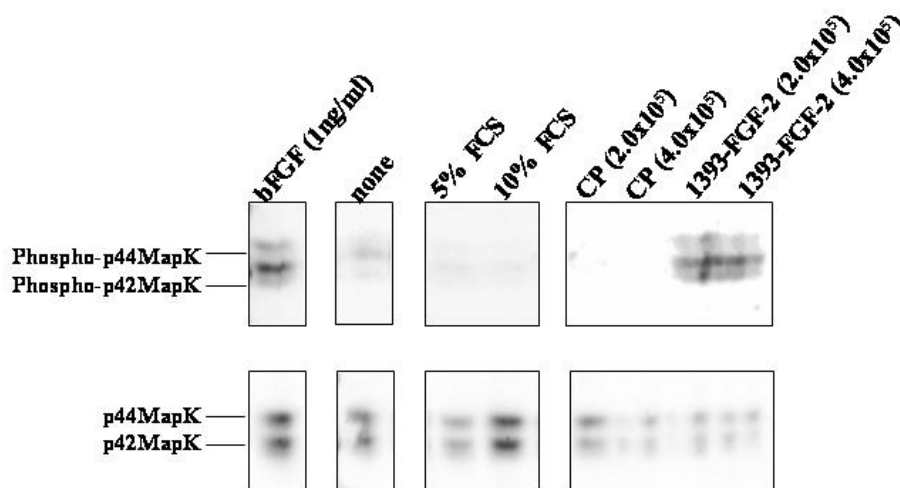


図 10 MAP kinase のリン酸化

Hoechst 33258 を用いて DNA 量を定量化した場合においても、BrdU を取り込ませることで測定した DNA 合成量においても、多角体固定化 FGF2 が細胞増殖を誘導する活性を有していることが確認できた。この 2 つの実験では空の多角体を添加した細胞においても極わずかな DNA 量の増加や DNA 合成量の上昇が見られたが、MAP kinase のリン酸化は全く確認されなかった。一方、多角体固定化 FGF2 を添加した細胞では MAP kinase のリン酸化が確認され、Hoechst 33258 を用いた DNA 定量実験や BrdU の取り込み実験で観察された DNA 量の増加や DNA 合成量の上昇は、多角体に固定化されている FGF2 によって誘導された現象であることが確認できた。以上の結果から、多角体固定化 FGF2 が本来の生理活性を保持していることが確認され、この細胞の増殖誘導は MAP kinase を介したシグナル伝達によるものであると結論付けられた。

この成果により、多角体に固定化された FGF2 が機能を保持したまま固定化されていることが分かり、「蛋白モジュール」としての多角体の有用性が立証された。また、本プロジェクトの中心となる「蛋白モジュール」に多角体を用いることが確定した。

さらに開グループでは、FGF2 固定化多角体を用い細胞増殖実験をさらに詳細検討し、多角体からの徐放性という新しい重要な知見も得た。これは中間評価後のパート（3.3 開・増原グループ部（P25～））に記載がある。

★ 中間評価後(H18年度～H19年度)

3. 1 レーザー分光法による多角体および細胞増殖・分化の評価（大阪大学徳永グループ、兼松グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

当グループでは、中間評価後の研究課題の絞込みにより、以下の2テーマに焦点を定め、取り組んできた。一つ目は、多角体蛋白モジュールの機能発現を目的とした「(a)包埋蛋白のダイナミクスの観測」である。多角体に包埋された蛋白質が機能性を保持していることは、プロジェクト前半における開・森肇グループによる細胞増殖誘導実験によって実証されている。われわれは、包埋蛋白の運動性という視点から多角体蛋白モジュールの機能発現機構に迫った。さまざまな顕微蛍光分光法により、包埋蛋白質は十分に運動自由度を保持しており、機能性に関連する構造変化が可能であることを明らかにした。二つ目は、細胞の増殖・分化制御の新しい方式の提案を目的とした「(b)細胞増殖・分化のその場評価法の開発」である。蛋白モジュールによって誘起された細胞応答を非侵襲的に観測する手段として、細胞内や細胞外マトリックスに存在する生体関連分子の自家蛍光をメーターゲットとして、その消長や時間的・空間的挙動を追跡するイメージング法を開発し、植物の感染応答反応の追跡に成功した。以下、各項目を具体的に述べる。

(a)包埋蛋白のダイナミクスの観測

プロジェクト前半において、多角体蛋白モジュールが細胞増殖を誘導できること、及び抗原抗体反応が可能であることが明らかになった。このことは、多角体に包埋された蛋白質が、外来蛋白や低分子と相互作用可能であることを示唆する。蛋白-蛋白(低分子)相互作用において、構造変化をとまなう場合が多く、さらに結合親和性という視点から、

(a-1) 多角体に包埋された蛋白質の運動性

(a-2) 「機能」する蛋白質の多角体中平均濃度に着目した。(a-1)については、緑色蛍光蛋白質GFPを包埋した多角体を用いて顕微回転緩和測定により回転自由度を評価した。さらに、カルシウム結合蛋白質S-モジュリンを包埋した多角体を用いて、カルシウム添加による構造変化を紫外蛍光顕微分光により評価した。S-モジュリンは光情報伝達に関与する蛋白質であり、生理機能に直接関係する構造変化が多角体においても実現するかどうかは極めて重要である。(a-2)については、(a-1)と同様に、分光的によく知られているGFPを包埋した多角体を用いて、蛍光を発するGFPの多角体中平均濃度を見積もった。

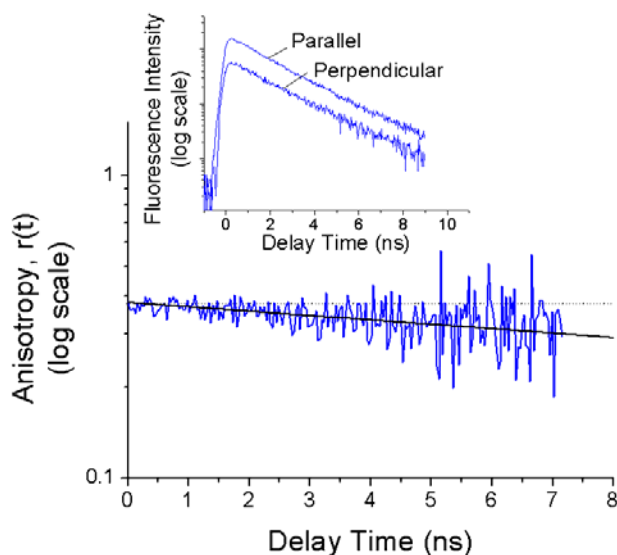


図9. 多角体に包埋したGFPの時間分解蛍光プロファイルと偏光解消特性

(a-1) 多角体に包埋された蛋白質の運動性

蛍光の偏光特性には分子の配向情報が含まれており、偏光特性の時間変化から回転自由度に対する運動性を評価することができる。偏光異方性は、分子の回転緩和を反映して時間とともに解消されていく。緑色蛍光蛋白質GFPは溶液中で単一指数関数的な偏光解消特性を示し、その時定数は14ナノ秒であることが知られている。この時定数はGFPが持つ円筒形状(直径 2.4nm×高さ 4.2nm)から見積もられる値とよく一致し、さらに溶媒の粘性に比例する。これらのことから、GFPの偏光解消特性は、局所的な発色団ではなく蛋白全体としての回転自由度を反映しており、その偏光特性から周囲の環境に関する情報を取得することができる。

図9の挿入図に、多角体に包埋した緑色蛍光蛋白質GFPの時間分解蛍光プロファイルを示す。それぞれ、励起光の偏光に対して平行および垂直な成分を示している。これらの蛍光プロファイルから得られた偏光異方性の解消特性を図に示す。10ナノ秒に満たない時間幅の中でも減衰特性が明瞭に確認できる。単一指数関数フィットから得られた時定数は30(±10)ナノ秒であり、溶液中の結果と比較して、わずか2倍程度である。これらのことから、多角体に包埋されたGFPは、依然として回転自由度を十分に保持していることが明らかになった。

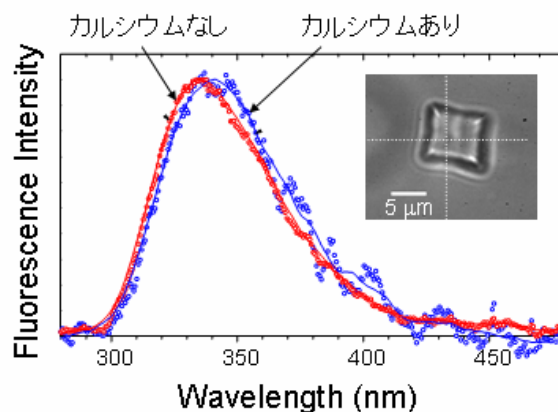


図 10. 多角体に包埋した S-モジュリンの紫外顕微蛍光スペクトル

S-モジュリン蛋白質は光情報伝達に関与する蛋白質であり、光環境に対する順応機構において重要な役割を果たすことが知られている。S-モジュリンはカルシウムと結合することで構造変化を起こし、活性型となる。前半における成果ですでに述べたように、S-モジュリンの構造変化はトリプトファン残基の蛍光スペクトルの長波長シフトによって確認することができる。プロジェクト前半において、多角体表面のS-モジュリンが構造変化できることを示唆する結果が得られた。後半では、共焦点紫外顕微鏡を構築し、より詳細に評価した。

図 10 に S-モジュリン包埋多角体の顕微下における紫外蛍光スペクトルを示す。励起波長は 280nm で、蛍光はトリプトファン残基に由来する。カルシウム添加によって、蛍光スペクトルが長波長側に有意にシフトしているのが確認できる。したがって、多角体に包埋された状態でも構造変化が可能であるという重要な結果が得られた。空間分布に関しては、カルシウム無添加の場合、場所に依存せず図の赤丸と全く同じ蛍光スペクトルを示した。一方、カルシウム添加の場合、蛍光スペクトルシフト量に多少の空間依存性があった。これらの結果は、S-モジュリン包埋量あるいは包埋状態に空間不均一性が存在することを示唆する。

(a-2) 「機能」する蛋白質の多角体中平均濃度

蛋白-蛋白(低分子)相互作用における結合親和性という視点から、多角体に包埋された蛋白質の表面密度が重要な指標となる。実際に「機能」する蛋白質が多角体にどの程度存在するのかという問題を、蛍光を発する緑色蛍光蛋白質GFPが多角体にどの程度存在するのか、という問題に単純化し、分光的评价によって大まかな平均濃度を見積もった。濃度既知のGFP溶液を標準試料とし、蛍光強度を比較することによって、多角体中GFPの平均濃度を見積もった。

蛍光によって放出される光子数は、 $J_{ex}\epsilon C\Phi A l$ に比例する。ここで、 J_{ex} は単位面積あたりの励起フロンフラックス、 ϵ はモル吸光係数、 C は平均モル濃度、 Φ は蛍光量子収率、 A は励起断面積、 l は試料中の励起光路長、したがって $A l$ は励起体積をあらわす。 J_{ex} 、 ϵ 、 A は G F P 溶液と G F P 多角体とは変化しないと仮定し、蛍光量子収率 Φ は蛍光寿命測定から相対値を見積もった。奥行き方向の励起光路長 l を決めることは難しいが、より確度を増すた

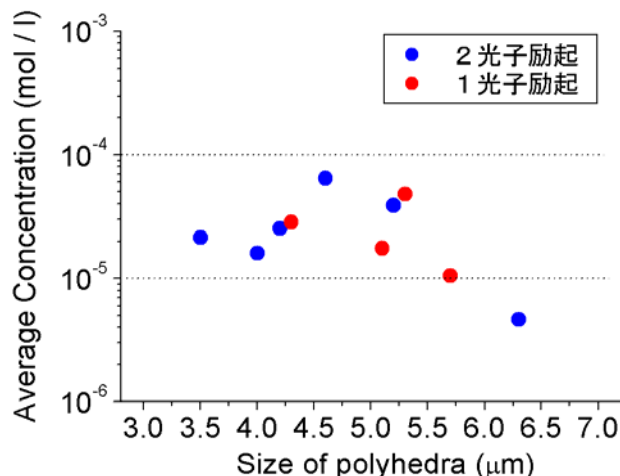


図 11. さまざまなサイズの多角体において見積もった G の平均濃度

めに、1光子励起・2光子励起の2種類の励起配置によって濃度を見積もった。それぞれの奥行き分解能は 70μm、3μm であり、G F P 溶液の場合の励起光路長 l はそれらの値を使った。一方、G F P 多角体は、サンプルサイズが 70μm よりはずっと小さく、3μm よりは多少大きいいため、1光子励起の場合の励起光路長 l は多角体のサイズ、2光子励起の場合の励起光路長 l は奥行き分解能である 3μm とした。

図 11 にさまざまなサイズの多角体において見積もった平均濃度を示す。6μm 以上の大きな多角体を除いて、 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ mol/l の平均濃度であることが分かった。見積もった値は、蛍光をもつ G F P が多角体内に均一に存在していることを仮定したが、実際にはごく表面近傍（少なくとも表面から 1μm 以内）にある G F P のみが蛍光を発することがこれまでの研究で分かっている。したがって、表面付近では、見積もった値よりは少なくとも約 1 桁高い濃度で、蛍光を発する G F P が存在することが予想される。

(b)細胞増殖・分化のその場評価法の開発

蛋白モジュールによって誘起された細胞応答を非侵襲的に観測する手段として、細胞内や細胞外マトリックスに存在する生体関連分子の自家蛍光をメーンターゲットとして、その消長や時間的・空間的挙動を追跡するイメージング法を開発した。細胞内や細胞外マトリックスには、芳香族アミノ酸、コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリックス構成成分、電子伝達系の補酵素群、二次代謝産物など、近紫外領域に光吸収をもつ成分が多く存在し、それらは自家蛍光として観測される。したがって、自家蛍光をメーンターゲットとして、それらの消長や時間的・空間的挙動を追跡するには、成分分離に特化したイメージングシステムの開発が不可欠である。

前半において、蛍光に関する多くのパラメータを高効率に取得する分光手法と、未知多成分分離に関する解析法を検討した。つまり、蛍光スペクトル、励起スペクトル、時間分解スペクトルを短時間で効率よく取得できるシステムを構築し、未知多成分に対する精度のよい分離手法であることを示した。後半では、本手法をイメージングシステムへと発展させた。さらに、植物の感染応答反応に適用し、防御反応にかかわる二次代謝産物の蛍光種の観測に成功した。

イメージングシステムの開発にあたり、大量のデータを高効率に短時間で取得することを目指した。通常の共焦点レーザー顕微鏡では、レーザーをサンプル上に集光し、レーザー光またはサンプルをXYの2軸に走査させながら受光することで蛍光イメージを取得する。われわれは、レーザー光をサンプル上に線状に集光し、サンプルからの蛍光を分光器を通してゲート付ICCDで受光することで、効率よくサブナノ秒時間分解蛍光スペクトル蛍光スペクトルを取得できる顕微イメージングシステムを構築した。例えば、480×640ピクセルのイメージを、各ピクセル位置での時間分解蛍光スペクトル情報とともに取得するのにかかる時間はわずか数分間である（露光時間：0.1秒）。これは、レーザーを線状に集光し、サンプル走査軸を1軸減らしたために達成することができた。仮に本手法を用いずにXYの2軸に走査させてデータを取得すると、10時間以上もの時間を費やすことになる。このことから、本手法の優位性を認識することができる。

この顕微システムを、感染物質によって誘起された植物細胞応答の非侵襲的観測・解析に適用した（図12.）。病原体に対する植物の防御反応機構には、過敏感細胞死による病原体の封じ込め、細胞壁蛋白質の架橋による病原体侵入阻止、抗菌性物質の生産と蓄積による病原体攻撃など、複雑な応答が存在する。われわれは細胞応答の中でも、二次代謝産物である抗菌性物質に着目し、その自家蛍光を捉えることで、細胞応答を追跡しようと試みた。結果、蛍光スペクトル、時間プロファイル、XYイメージを取得することで、複数の自家蛍光成分の中から、抗菌物質ファイトアレキシンの蛍光種を捉えることに成功した。この成分に対する蛍光像を、感染後から時々刻々と取得することにより、細胞間を伝播していく複雑な感染応答反応に対する新しい解析手法となることを提案した。

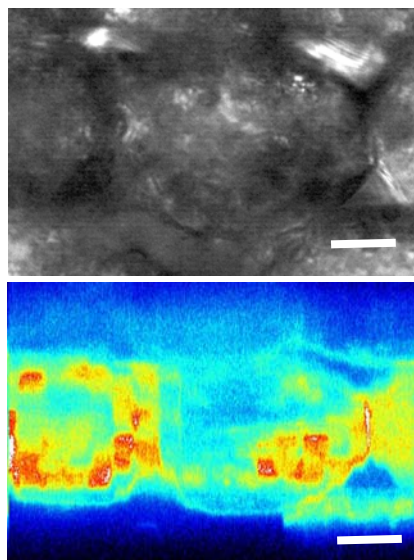


図 12. エンバク葉肉細胞の透過像（上）と抗菌物質の自家蛍光像。葉緑体に蓄積していることが分かった。スケールバーは100μm。

(2)研究成果の今後期待される効果

多角体に包埋された蛋白質が依然として運動性を保持しており、構造変化可能であることが明らかとなった。さらに、包埋された蛋白質の濃度を推定した。これらの成果は、蛋白多角体というユニークな構造体に対する物理的知見を与えるとともに、蛋白モジュールとしての可能性をより広げるものである。

成分分離に特化した顕微蛍光イメージングシステムは、自家蛍光をメーンターゲットとした非侵襲的手法としての汎用性は高く、今後の適用例の増加とともにさらなる展開が期待できる。蛍光に関する多くの分光情報を効率よく取得し、未知多成分の分離を行い、複数成分の消長や時間的・空間的挙動を追跡可能な本手法は、自家蛍光追跡だけでなく、多重蛍光プローブ追跡や、背景除去技術への発展が期待できる。

3. 2 多角体モジュール作製および評価（京都工芸繊維大学、森グループ）

(1)研究実施内容及び成果

中間評価の結果を受け、研究の絞り込みを行って、「多角体蛋白モジュールとレーザーマニピュレーションによる細胞・増殖分化の時空間的制御」に焦点を定めることとした。森グループは、「多角体モジュール作製および評価」を担当することとなった。2001年ごろから

森教授がニュージーランド・オークランド大のグループと共同研究を立ち上げ続けていた結晶構造解析が、2006年に完了し、Nature 誌に掲載された。

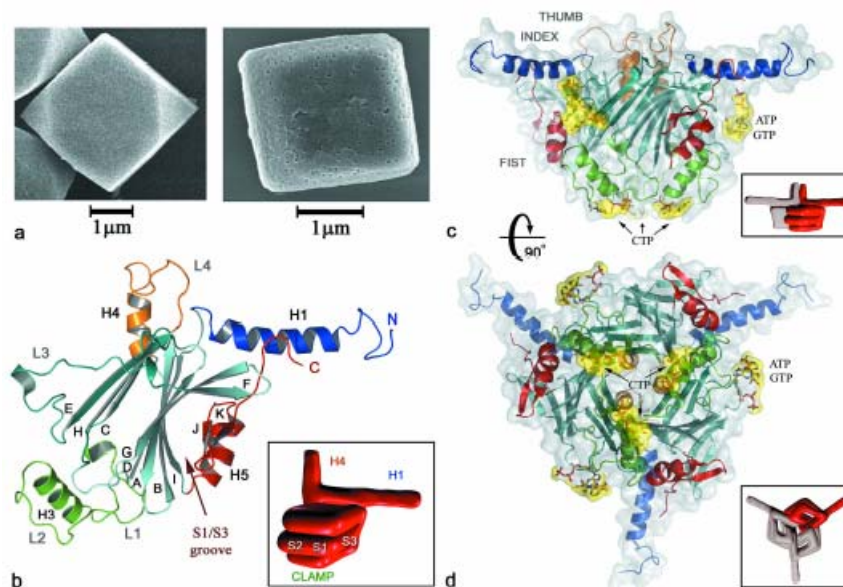


図13 多角体の立体構造

多角体は、図 13 右 c、d のようなタイトな三量体構造をとっており、結晶中の水分子含有量が、19%程度しかない蛋白質結晶としては特異な結晶であることが分った。立体構造が判明したことにより、多角体結晶の生成メカニズムや外来蛋白質の固定化メカニズムの推定が可能になった。この立体構造情報を利用することにより新たな固定化法の開発にも着手した。

これらのことにより中間評価後の森グループの研究テーマは

1. 多角体形成、固定化メカニズムの解明と固定化法の改良
2. 細胞刺激可能な多角体の作製

の二点に絞られた。

1. 多角体形成、固定化メカニズムの解明と固定化法の改良

結晶構造情報を利用することにより、変異体作製による多角体の安定性の改変や新規固定化法の開発が可能になった。結晶構造解析からポリヘドリンの N 末端部分が三量体形成に非常に重要な役割を担っていることとチロシン残基間の水素結合が多角体の安定性に重要な寄与をしていることが推定された。

この情報を基に

- a. N 末端部分配列 (H1) を用いた新規固定化法の開発
- b. チロシン残基変異による多角体安定性改変

の実験を行った。

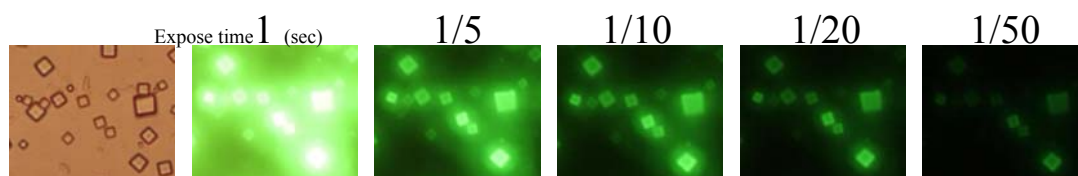
a. N 末端部分配列 (H1) を用いた新規固定化法の開発

N 末端部分配列に外来蛋白質を融合させた遺伝子を作製し、そのまま発現させて多角体状のものが形成されるか、あるいは、ポリヘドリンと共発現させたときに H1 融合外来蛋白質が多角体に固定化されるか実験を行った。

その結果、昆虫細胞内での H1 融合外来蛋白質の多角体結晶状のものの作製は見られなかったが、ポリヘドリンと共発現させたものでは外来蛋白質の固定化が確認された。実験は、EGFP を用い固定化量を従来の VP3 を用いた固定化法と蛍光により比較した (図 14)。図 14 から明らかなように、H1 を用いた蛋白質固定化法のほうが蛋白質固定化量が多いことが分かる。このことにより我々は、多角体への固定化法として、従来の VP3 を利用する固定

化法と H1 を利用する固定化法の二種類の開発に成功した、H1 を用いた固定化法では、ニュージーランドのグループと共同で特許を取得した (NZ 553519)。

H1-EGFP



EGFP-VP3

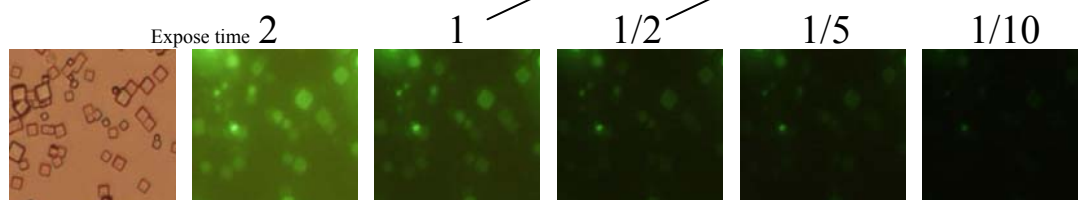


図14 EGFP固定化多角体の蛍光観察

さらに蛋白質のみならず他の低分子や金属の固定化を可能にするために結晶構造からもっとも安定な位置 His76 に Cys 変異を導入し、チオールを利用した固定化用サイトの導入にも成功した。この H76C 変異体の S-S 結合を用いた低分子の導入には成功しており、これもニュージーランドのグループと共同で特許を取得した (NZ 553518)。
このように固定化法については、従来の VP3 を用いた固定化、N 末端部分配列、H1 を用いた固定化、さらに低分子なども固定化できる H76C を用いた固定化と三種類の固定化法の開発に成功した。

b. チロシン残基変異による多角体安定性改変

結晶構造によれば、多角体の分子内部においてチロシン残基間の水素結合が観察され、このことにより多角体の高い安定性が実現されていることが推定される。特にチロシン残基の pKa は高く、チロシン間の水素結合によりアルカリ条件下でしか溶融しないということが類推される。そこで、このチロシン残基に変異を導入することにより多角体の安定性の変化を観察することとした。

その結果、Y42F、Y232F 変異体においては、昆虫細胞内で多角体状の結晶が微結晶としてしか作製されず、安定性に著しい変化が生じたことが示唆された。現在、さらなる変異導入による変異体を作製して多角体形成メカニズムの解明への道を探っている。

2. 細胞刺激可能な多角体の作製

森グループでは、中間評価会までに 20 数種類のサイトカインの多角体への固定化に成功している (表 1)。これらのサイトカイン固定化多角体が生理活性を有しているか、実際の細胞培養実験を行うことにより確認を進めた。

実験は、NIH3T3 細胞を用い、細胞の増殖確認を CCK4 による増殖アッセイと MAPkinase のリン酸化を見ることで確認した。典型的な結果を図 15 に示す。FGF2 は、既に細胞増殖を誘導できることが確認済みであるのでポジティブコントロールとして使用し、空の多角体 (CP-H) をネガティブコントロールとして用い、新しいサイトカイン固定化多角体との差を比較した。図 15 から明らかなように TGF α においても FGF2 と同様の結果が得られたことから TGF α は生理活性を有した状態で多角体に固定化されていることが確認された。この実験を他のサイトカイン固定化多角体にも行い、生理活性の確認を進めた。その結果、PDGF-B、IGF-1、BMP4 で生理活性が確認された。現在も確認作業を続けている。

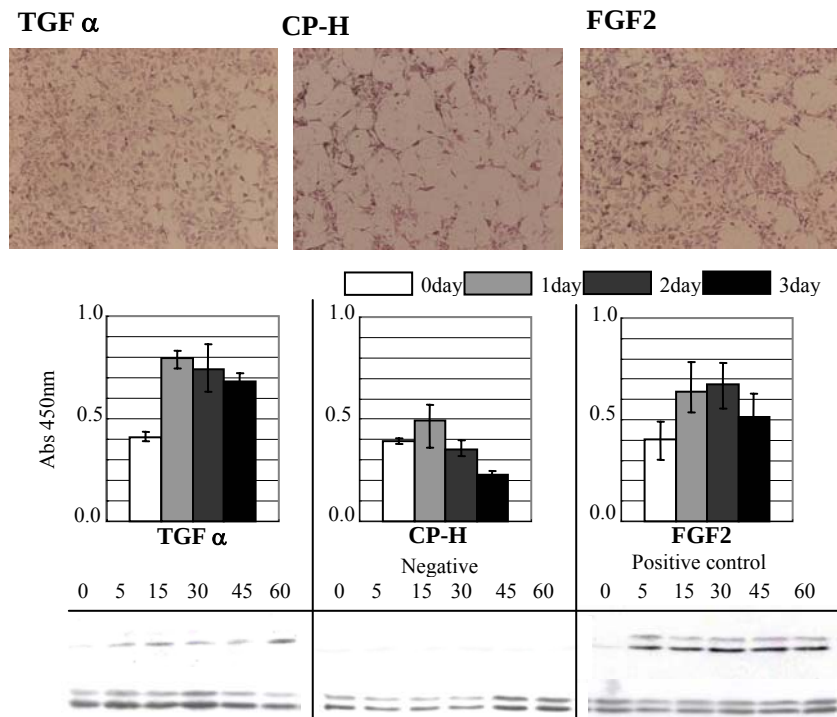


図15 上段：細胞染色図、増殖実験後の細胞を染めた図

中段：増殖アッセイ。CCK4による増殖アッセイ結果

下段：リン酸化アッセイ。MAPkinaseのリン酸化を時系列で見た結果。

これまで NIH3T3 あるいは軟骨分化のモデル細胞である ATDC5 を用い細胞増殖実験を行ってきたが、サイトカイン固定化多角体の生理活性の確認のみならず分化制御も視野に入れるため血管内皮細胞 HUVEC を用いた研究も進めた。血管内皮細胞増殖因子としては VEGF が知られており、VEGF を用い HUVEC の増殖アッセイ実験を行った。この実験でも上記実験と同様、MAPkinase のリン酸化の確認を行った。図 16 に結果を示す。図中 PDI とあるのは、発現時にジスルフィドイソメラーゼ酵素が働くように設計されたもので CP-H と共に共発現し、蛋白質の折り畳みを促進する効果を期待して外来蛋白質の活性保持のために作製したものであり、CP-H 多角体に固定化したものと同等である。C/PDI が C 末端に VP3 が付いた VEGF であり、W は遺伝子組換えにより強制的に二量体化した VEGF、H1 は H1 で固定化した VEGF を示す。コントロールとして、通常の培地で培養した結果と液性因子として VEGF を添加した結果も併せて示した。この結果、C 末端に VEGF を固定化した多角体で増殖シグナルの誘引が他のものよりも強く確認された。現在も活性を確認中であるが、VEGF についても生理活性がある状態で固定化されているものと考えている。

特に、PDGF や VEGF などのサイトカインは二量体化した状態でないと生理活性が発揮されないとされているため多角体の応用範囲を決める上で上記実験は非常に重要な意味を持っており、固定化法と併せ検討を進めている。

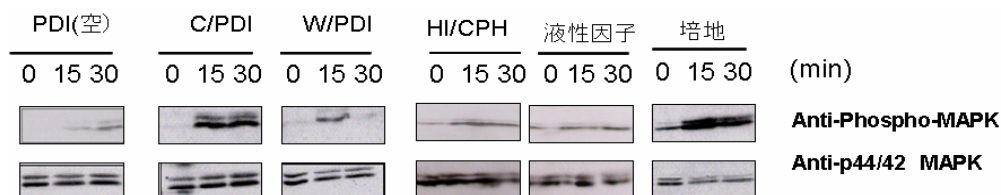


図16 MAPK,phospho-MAPK 抗体でのシグナル検出

(2)研究成果の今後期待される効果

多角体への蛋白質の固定化量の調整や多角体からの徐放性の制御も結晶構造情報が手に入ったことにより検討可能になったために、新規固定化法の開発が可能になった。実際、新規固定化法の開発に成功し、我々は低分子固定化も併せると三種類の固定化法を手に入れたことになる。このことは、多角体が蛋白モジュールとして細胞制御に使えるのみならず、次世代プロテインチップとしての可能性をも示すものであり基礎医学のみならず医療現場への応用も期待できる。細胞を用いた実験においても確実に成果を挙げており、細胞種も増え、具体的な細胞分化制御への足がかりもできている。今後、多角体は、細胞生物学が求めている好きな時間に好きな場所に好きな量作用させることができる「時空間制御可能な」新しい実験ツールとして確立し、そのことにより組織形成や細胞分化メカニズムの詳細が明らかにされていくと期待できる。

3.3 多角体蛋白モジュールとレーザーマニピュレーションによる細胞・増殖分化の時空間的制御 (京都大学 開グループ、大阪大学 増原グループ)

(1)研究実施内容及び成果

A. 細胞増殖・分化制御多角体モジュールの評価： FGF-2 固定化多角体の細胞増殖と分化に関する 詳細研究

カイコ細胞質多角体病ウイルス(CPV)の外殻蛋白質 viral capsid protein 3 (VP3)と緑色蛍光蛋白質 EGFP からなるキメラ蛋白質を多角体蛋白質(polyhedrin)と共に発現させると、得られる多角体に GFP が固定化される (GFP Polyhedra)。固定化された GFP は生理的条件下で蛍光蛋白質として機能を発現した。図 17 に示すように、培養系に GFP Polyhedra を添加すると、一般的な動物細胞(マウス前駆軟骨細胞株 ATDC5)の大きさに比して遥かに小さな(立方体)空間に GFP 蛋白質が固定化されたことが示される。

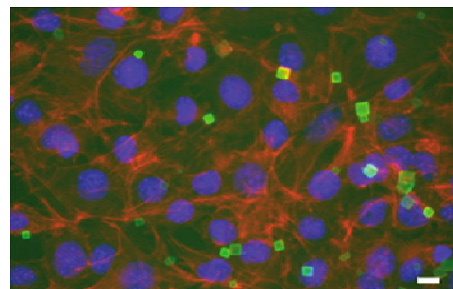


図 17 GFP 固定化多角体を添加した ATDC5 細胞培養系。Red: F-アクチン; Blue: 細胞核; Green: GFP 多角体。Scale bar, 10 μ m。

Fibroblast
Growth Factor-2 (FGF-2)は、多様な間葉系未分化・分化細胞に広く作用して細胞増殖を強く促進する。そこで、次に、FGF-2 の C-末端側に VP3 を結合させることにより FGF-2 を固定化した多角体を作成した (FGF-2 Polyhedra; F2P)。

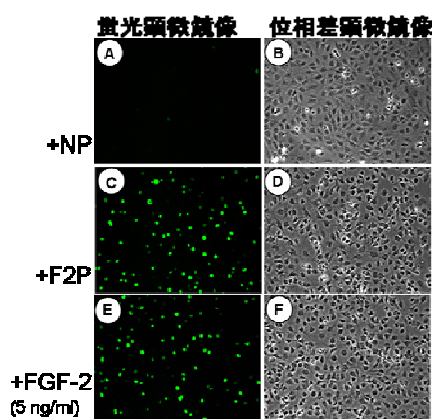
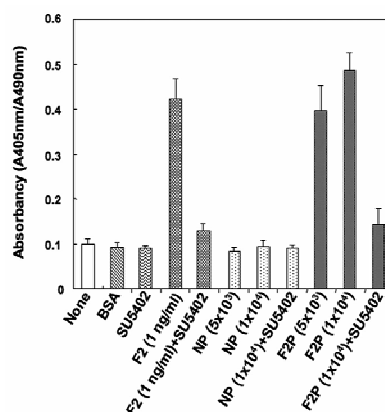


図 18 FGF2 固定化多角体添加後の ATDC5 の細胞増殖

G. DNA合成(BrdUrdの取り込み)



止した ATDC5 細胞に F2P 多角体を添加すると、細胞は培地に過剰投与量の FGF-2 (5 ng/ml)

添加時と同程度の強い細胞増殖促進活性を示した(図 18)。1 個の F2P 多角体は 1 個以上の細胞に増殖応答を惹起するに十分な生物活性を示し、FGF-2 を含まない NP は、全く細胞増殖促進活性を示さなかった。この活性は、P44/P42 MAP キナーゼを経る FGF 受容体シグナルの活性化により惹起され、特異的阻害剤 SU5402 で阻害された。

ATDC5 細胞は、5% FBS(ウシ胎仔血清)とインスリン存在下に培養すると 1-2 週間で軟骨細胞に分化して Alcian Blue 陽性の軟骨結節を形成する。この時、至適用量の FGF-2

Alcian Blue染色

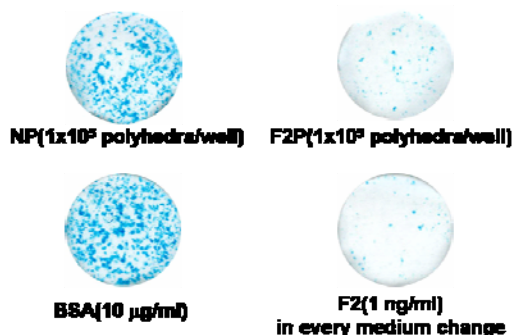


図 19 FGF2 固定化多角体添加後の ATDC5

が持続的に作用すると軟骨分化を阻害して、軟骨結節の形成は著しく抑制される。F2P 多角体は一旦培養系に添加するだけで、2 週間培養後でも軟骨結節の形成を著明に抑制した(図 19)。これは、週に 2 回の培地交換毎に至適濃度(1 ng/ml)の FGF-2 を添加し続けた場合と同等の活性であり、F2P 多角体が持続的に FGF シグナルを活性化することが明らかとなった。次に、蛋白質徐放担体として一般的に用いられている Affi-Gel ビーズに FGF-2 を結合させた AF-F2 を作成し、F2P 多角体との比較を行なった。培養皿底面の一定区画内に、AF-F2 あるいは F2P を配置した(図 20)。

(図 20B-D の位相差像では、いずれも左側半分に Affi-Gel ビーズまたは多角体が

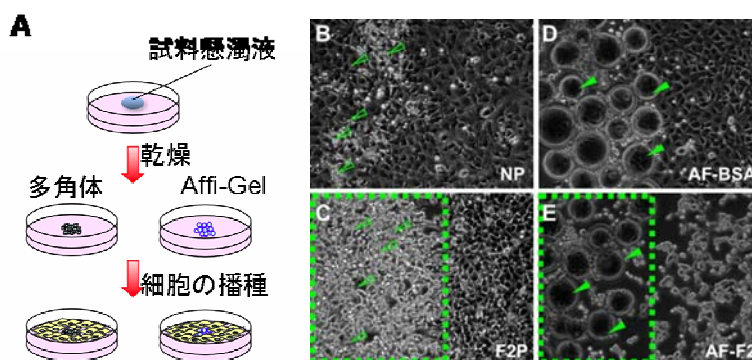


図 20 多角体(B, C)と Affi-Gel ビーズ(D, E)を添加した ATDC5 の細胞増殖

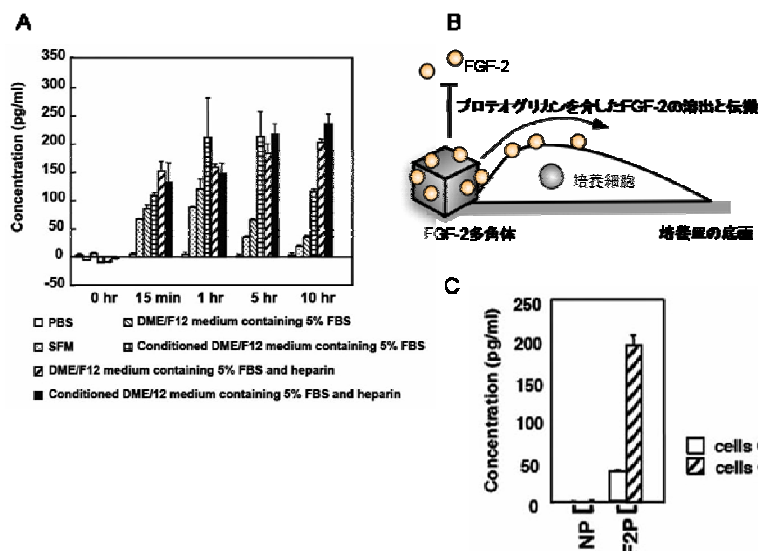


図 21 ATDC5 の細胞増殖の培地依存性。

配置されている。図 20C、図 7E では、この領域を緑波線で示した。)さらに、この上に ATDC5 細胞を播種した。FGF-2 を含まない Affi-Gel ビーズや多角体(NP)のいずれでも、単層の細胞層が形成され、細胞は増殖を停止した(図 20B、図 20D)。AF-F2 ビーズでは、徐放された FGF-2 が培地中に広く拡散されるので、ビーズから離れた細胞も細胞接着に乏しい増殖形態を呈する(図 20E)。これに対して、F2P の増殖促進活性は F2P と接触する空間的に極めて限定された位置の細胞群の

みが増殖応答を示した(図 20C)。

F2P を PBS (phosphate buffered saline) に浸漬しても、FGF-2 はほとんど溶出してこない(図 21A)。無血清培地や FBS を含む培地に浸漬すると、比較的短時間(1 時間以内)に一過性の FGF-2 の溶出が観察されるものの、それ以降には減少した。これに対して、ヘパリン添加培地や ATDC5 細胞で条件付け培地では、FGF-2 が持続的に培地中に溶出された(図 21A)。この結果は、多角体に固定化された FGF-2 がその低親和性受容体であるヘパラン硫酸プロテオグリカンとの相互作用を介して放出される特異な溶出機構を示唆している(図 21B)。事実、ATDC5 細胞の培養条件下に F2P を添加した場合には、FGF-2 の大部分は培地に遊離せず直接に細胞にトラップされた(図 21C)。以上の結果は、細胞増殖分化因子を固定化した多角体が、これまでに汎用されている蛋白質固定化/徐放担体とは基本的に異なる時空間制御を可能にする新規な細胞制御プロセスの基本素子となる可能性を示している。

B. 多角体モジュールパターニング法の細胞培養系への適用最適化

レーザーマニピュレーションおよびレーザーマイクロプロセスによる細胞と多角体モジュールの空間的パターニング法を培養細胞系に適用し、細胞と多角体モジュールの空間的制御およびその相互作用について検討した。

図 22 に示すように、蛋白質微結晶を高密度に接着した基板(ソース基板)をこの結晶が接着できる基板(ターゲット基板)を対置させ、その間に挿入した水にフェムト秒レーザーを集光することにより誘起した非線形現象により、ソース基板の蛋白質微結晶を振り落としてターゲット基板に転写することに成功した。この方法を応用することにより複数種類の蛋白質を細胞と同程度の大きさでパターニングできるようになった。さらに転写元となる基板(ソース基板)上で細胞を培養して、ソース基板を培養細胞が逆さ吊りになる形で転写先となる基板(ターゲット基板)の上に配置し、ソース基板とターゲット基板の間の培養液にフェムト秒レーザーを集光照射することにより細胞をターゲット基板へ転写することに成功した。転写された細胞は基板上に仮足を伸ばして接着していることから細胞活性を保っていることが確認できた。また、多角体や細胞の転写幅とキャ

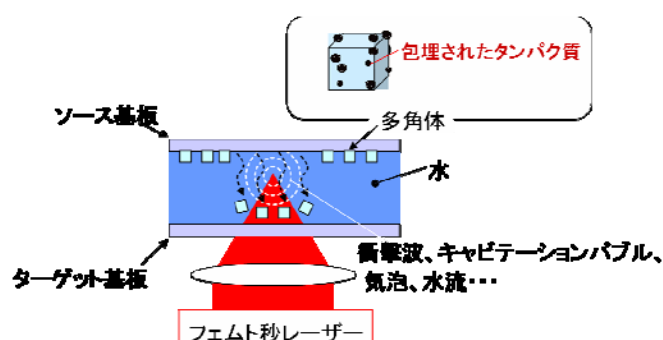
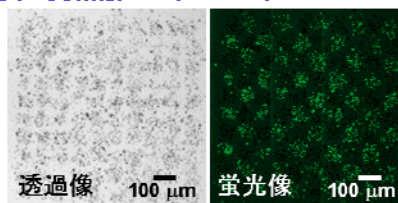


図 22 フェムト秒レーザーによる多角体と細胞のマイクロ転写の実験模式図

蛋白質結晶のパターニング



培養動物細胞のパターニング

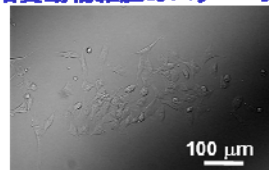


図 23 多角体と細胞のマイクロパターニング

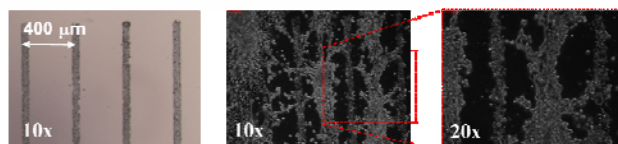


図 24 マイクロパターニングした FGF2 固定化多角体上での ATDC5 の細胞増殖

ビテーションバブルの最大直径の相関を検討した結果、転写はキャビテーションバブル発生とほぼ同じしきい値でおこり、キャビテーションバブルに衝突した多角体や細胞も活性が失われないことが証明されている。この結果は、フェムト秒レーザーにより蛋白質や細胞にほとんど損傷を与えることなく、単一レベルで操作できることを示している。

さらに、FGF2 を固定化した多角体をマイクロパターニングし、その上で骨髓幹細胞である ATDC5 を培養し、その挙動を調べた。上記 A の結果より、FGF2 と ATDC5 との相互作用をみるのに適した方法として、フェムト秒レーザープロセスにより作製したマスクパターンによるサブミリサイズの多角体パターンを適用した。図 24 に示す結果のように、細胞の挙動が多角体により影響される様子が観察された。このように多角体をマイクロサイズで多角体をパターンすることにより、その培養パターンを制御できることが示された。

(2)研究成果の今後期待される効果

今回の FGF-2 固定化多角体の示した生物活性評価の結果は、細胞増殖分化因子を固定化した多角体が、これまでに汎用されている蛋白質固定化／徐放担体とは基本的に異なる時空間制御を可能にする新規な細胞制御プロセスの基本素子となる可能性を示している。一方、多角体に包埋された増殖・分化因子により、細胞形態をマイクロサイズで制御できることも明らかにしており、これらの技術により、ナノ・マイクロ空間で細胞増殖を制御する新しい方法論を提示するに至っている。

さらに我々はフェムト秒レーザーによる非線形現象を利用することにより、多角体や細胞に適したパターニング法を確立した。この手法は、完全に水中で複数種類の蛋白質を配列できるという点で、光リソグラフィーやインクジェットプリンティングなどによる他のパターニング手法よりも優れた利点を持っており、国際特許出願に至っている(PCT/JP2006/305993)。

4 研究参加者

★ 中間報告前 (～H18. 3)

① 蛋白素子作製グループ (シグナル因子である蛋白質の微結晶の作製の研究)

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
佐々木 孝友	大阪大学大学院・工学研究科	教授	標的蛋白のモジュール化	H14. 11～H18. 3
森 勇介	大阪大学大学院・工学研究科	助教授	標的蛋白のモジュール化	H14. 11～H18. 3
吉村 政志	大阪大学大学院・工学研究科	助手	標的蛋白のモジュール化	H16. 4～H18. 3
安達 宏昭	大阪大学大学院・工学研究科	特任助教授	標的蛋白のモジュール化	H14. 11～H18. 3
矢追 真理	大阪大学大学院・工学研究科	M 2	標的蛋白のモジュール化	H16. 4～H17. 3
村上 敦俊	大阪大学大学院・工学研究科	M 2	標的蛋白のモジュール化	H16. 4～H17. 3
佐藤 篤志	大阪大学大学院・工学研究科	M 2	標的蛋白のモジュール化	H16. 4～H18. 3
村井 良多	大阪大学大学院・工学研究科	M 1	標的蛋白のモジュール化	H17. 4～H18. 3
森 肇	京都工繊大学・繊維学部応用生物学科	助教授	標的蛋白のモジュール化	H14. 11～H20. 3
池田 敬子	(株)プロテイン・クリスタル	研究員	標的蛋白のモジュール化	H14. 11～H17. 3
中澤 裕	(株)プロテイン・クリスタル	研究員	多角体モジュール作成及び評価	H16. 4～H17. 3
古山 明子	京工繊大・繊維学部応生	M 2	多角体モジュール作成及び評価	H16. 4～H17. 3
安田 幸弘	京工繊大・繊維学部応生	M 2	多角体モジュール作成及び評価	H16. 4～H18. 3
野津 裕之	京工繊大・繊維学部応生	M 2	標的蛋白のモジュール化	H16. 4～H18. 3

②モジュール作製グループ（光圧特有の蛋白質集合体の形成と配列制御およびレーザー操作による細胞・蛋白質の空間制御の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
増原 宏	大阪大学大学院・工学研究科	教授	標的蛋白のモジュール化	H14.11～H20.3
細川 陽一郎	大阪大学大学院・工学研究科	CREST 研究員	標的蛋白のモジュール化	H15.4～H20.3
松原 千恵	大阪大学・先端イノベ VBL	研究員	標的蛋白のモジュール化	H16.4～H18.3
吉川 洋史	大阪大学大学院・工学研究科	D 3	標的蛋白のモジュール化	H16.4～H18.3
中村 和彦	大阪大学・生命機能学科	D 3	標的蛋白のモジュール化	H16.4～H19.3
安國 良平	大阪大学大学院・工学研究科	D 2	標的蛋白のモジュール化	H16.4～H19.3
梶 貴博	大阪大学大学院・工学研究科	D1	標的蛋白のモジュール化	H17.4～H19.3
笹部 昌子	大阪大学大学院工学研究科	研究補助員	研究補助	H14.11～H16.3

③モジュール機能発現グループ（モジュールの高度な機能評価の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
徳永 史生	大阪大学大学院・理学研究科	教授	全体統括	H14. 11～H20. 3
中村 亮介	大阪大学・先端イノベーション VBL	CREST 研究員	蛋白モジュール機能評価	H15. 4～H20. 3
濱田 格雄	大阪大学・先端イノベーション VBL	CREST 研究員	標的蛋白の自己組織化	H15. 4～H19. 9
山田 寛士	大阪大学大学院・理学研究科	D 2	標的蛋白の自己組織化制御	H16. 4～H17. 3
曾田 幸司	大阪大学大学院・理学研究科	M 2	標的蛋白の自己組織化制御	H16. 4～H17. 3
馬渡 亮	大阪大学大学院・理学研究科	M 2	標的蛋白の自己組織化制御	H16. 4～H17. 3
岡藤 麻子	大阪大学大学院・理学研究科	D 1	分光手法開発・蛋白モジュールの分光測定	H17. 4～H20. 3
松本 健吾	大阪大学大学院・理学研究科	M 2	標的蛋白の自己組織化制御	H16. 4～H18. 3
前川 絵美	大阪大学大学院・理学研究科	D 2		H16. 4～H20. 3
位田 卓	大阪大学大学院・理学研究科	M 1	分光手法開発・蛋白モジュールの分光測定	H17. 4～H19. 3
兼松 泰男	大阪大学・先端イノベーション VBL	教授	蛋白モジュール機能評価	H14. 11～H20. 3
市田 秀樹	大阪大学・先端イノベーション VBL	助手	蛋白モジュール機能評価	H16. 4～H20. 3
阿井千賀子	大阪大学大学院工学研究科	チーム事務員	事務	H14.11～H16.3
澤田 深雪	大阪大学先端イノベーション・VBL	チーム事務員	事務	H16.4～H17.5
寺村 絵里子	大阪大学先端イノベーション・先導	チーム事務員	事務	H17.5～H19.3

④細胞増殖誘導グループ（マイクロ自己増殖誘導の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
開 祐司	京都大学・再生 医科学研究所	教授	蛋白モジュール機能 評価	H14. 11～H20. 3
宿南 知佐	京都大学・再生 医科学研究所	助教授	蛋白モジュール機能 評価	H14. 11～H20. 3
近藤 俊哉	京都大学・再生 医科学研究所	助手	蛋白モジュール機能 評価	H16. 4～H20. 3
西崎 有利子	京都大学・再生 医科学研究所	博士研究員	蛋白モジュール機能 評価	H15. 9～H20. 3
三浦 重徳	京都大学・再生 医科学研究所	D 3	蛋白モジュール機能 評価	H15. 9～H20. 3

★ 中間報告後（H18. 4～）

①徳永・兼松グループ（レーザー分光法による多角体および細胞増殖・分化の評価の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
徳永 史生	大 阪 大 学 大 学 院・理学研究科	教授	全体統括	H14. 11～H20. 3
兼松 泰男	大阪大学・先端イ ノベ VBL	教授	蛋白モジュール評価の ための分光・イメージ ング法の開発	H14. 11～H20. 3
中村 亮介	大阪大学・先端イ ノベ VBL	CREST 研究員	蛋白モジュール評価の ための分光・イメージ ング法の開発・測定	H15. 4～H20. 3
吉岡 宏幸	大阪大学先端科 学イノベ VBL	特任研究員	蛋白多角体の作製と評 価	H19. 4～H20. 3
岡藤 麻子	大 阪 大 学 大 学 院・理学研究科	D 3	蛋白モジュールの分光 測定	H17. 4～H20. 3
前川 絵美	大 阪 大 学 大 学 院・理学研究科	D 2	包埋蛋白の機能発現評 価	H16. 4～H20. 3
位田 卓	大 阪 大 学 大 学 院・理学研究科	M 2	分光手法開発・蛋白モ ジュールの分光測定	H17. 4～H19. 3
市田 秀樹	大阪大学・先端イ ノベ VBL	助手	分光・イメージング手 法の開発	H16. 4～H20. 3
後藤 達志	大 阪 大 学 大 学 院・理学研究科	助手	包埋蛋白の機能発現評 価	H19. 4～H20. 3
岡本健太郎	大阪大学大学院 理学研究科	D 2	分光手法開発・蛋白モ ジュールの分光測定	H19. 6～H20. 3
寺村絵里子	大阪大学先端科 学イノベ先導	チーム事務員	事務	H17. 4～H19. 3
藤原裕美子	大阪大学先端科 学イノベ先導	チーム事務員	事務	H19. 4～H20. 3

② 森 グループ（多角体モジュール作製および評価の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
森 肇	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	教授	多角体モジュール 作成及び評価	H14.11～H20.3
濱田 格雄	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	CREST 研究員	多角体モジュール 作成及び評価	H15.4～H20.3
井尻 宏志	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	D 2	多角体モジュール 作成及び評価	H18.4～H20.3
武田 悠吾	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 2	多角体モジュール 作成及び評価	H18.4～H20.3
中井 大介	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3
日比 華子	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3
広嶋 利江	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3
赤木 祐一郎	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3
田辺 徹	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3
足立 卓彦	京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科	M 1	多角体モジュール 作成及び評価	H18.10～H20.3

③ 開・増原グループ（細胞増殖・分化制御とレーザーマニピュレーション法評価の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
開 祐司	京都大学・再生 医科学研究所	教授	細胞増殖・分化制御多 角体モジュールの評価	H14. 11～H20. 3
宿南 知佐	京都大学・再生 医科学研究所	助教授	多角体モジュールの培 養細胞系への適用	H14. 11～H20. 3
近藤 俊哉	京都大学・再生 医科学研究所	助手	軟骨分化モデル細胞系 への作用解析	H16. 4～H20. 3
西崎 有利子	京都大学・再生 医科学研究所	博士研究員	軟骨分化モデル細胞系 への作用解析	H15. 9～H20. 3
三浦 重徳	京都大学・再生 医科学研究所	研修員	多角体モジュールの培 養細胞系への適用	H15. 9～H20. 3
増原 宏	大阪大学大学 院・工学研究科	教授	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H14. 1～H19. 3
	（財）濱野生命 科学研究財団	主席研究員		H19. 4～H20. 3
細川 陽一郎	大阪大学大学 院・工学研究科	CREST 研究員	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H15. 4～H19. 3
	（財）濱野生命 科学研究財団	CREST 研究員		H19. 4～H20. 3
中村 和彦	大阪大学・生命 機能学科	D 3	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H16. 4～H19. 3
安國 良平	大阪大学大学 院・工学研究科	D 2	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H16. 4～H19. 3
梶 貴博	大阪大学大学 院・基礎工学研 究科	D 1	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H17. 4～H19. 3
井口世利也	大阪大学大学 院・工学研究科	M 2	多角体モジュールパタ ーニング法の培養細胞 系への適用最適化	H18. 4～H19. 3

5 招聘した研究者等

氏 名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
S.Roy (Dayalbagh Education Institute, INDIA、Professor)	INPS3 参加・講演のため	大阪	2006.7.6～ 2006.7.8
J.Hofkens (Katholieke Universiteit Leuven, Belgium、Profressor)	INPS3 参加・講演のため	大阪	2006.7.6～ 2006.7.8

6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 65 件)

- 1) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga, and Y. Kanematsu,
“Coherent oscillations in ultrafast fluorescence of photoactive yellow protein,” *J. Chem. Phys.* 127, pp. 215102-08 (2007)
- 2) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, K. Fujiyama, T. Seki, and H. Masuhara
“Influence of Femtosecond Laser-induced Impulsive Force on Cell Division of Fission Yeast Cell,” Submitted to *Applied Physics A*.
- 3) C. Hosokawa, S. N. Kondoh, A. Kiyohara, Y. Hosokawa, K. Okano, H. Masuhara, T. Taniguchi
“Femtosecond laser microprocesing for modification of living neuronal network,” Submitted to *Applied Physics A*.
- 4) A. Yamaguchi, Y. Hosokawa, A. kiyohara, G. Louit, T. Asahi, C. Shukunami, Y. Hiraki and H. Masuhara
“Nanoparticle injection to single animal cells by focused femtosecond laser-induced impulsive Force,” Submitted to *Applied Physics A*.
- 5) T. Kaji, S. Ito, H. Miyasaka, Y. Hosokawa, H. Masuhara, C. Shukunami and Y. Hiraki
“Non-destructive Micro-patterning of Living Animal Cells Using Focused Femtosecond Laser-induced Impulsive Force,” *Applied Physics Letters*, Vol. 91, pp. 023904 (2007)
- 6) H. Mori, C. Shukunami, A. Furuyama, H. Notsu, Y. Nishizaki and Y. Hiraki,
“Immobilization of Bioactive Fibroblast Growth Factor-2 into Cubic Proteinous Microcrystals (Bombyx mori Cypovirus Polyhedra) That Are Insoluble in a Physiological Cellular Environment,” *J. Biol. Chem.*, Vol.282, No. 23, pp. 17289-17296 (2007)
- 7) Y. Hosokawa, Y. Jiang, I. Oh, N.Takizawa, T. Uwada, K. Okano, H. Masuhara
“Femtosecond Laser Manipulation Techniques for Individual Patterning of Biological Micro-object,” Submitted to *Proceeding of SPIE*.
- 8) N. Takizawa, K. Okano, T. Uwada, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Viability evaluation of culture cells patterned by femtosecond laser-induced impulsive force,” Submitted to *Proceeding of SPIE*.
- 9) K. Okano, N. Takizawa, T. Uwada, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Smart bombing a single targeted cell with femtogram order reagents using laser-induced shockwave technique,” Submitted to *Proceeding of SPIE*.
- 10) T. Uwada, Y. Hosokawa, N. Takizawa, K. Okano, H. Masuhara
“Organic molecular sensing by single metal porphyrin nanoparticles,” Submitted to *Proceeding of SPIE*.
- 11) T. Sugiyama, T. Asahi, K. Yuyama, H. Takeuchi, H.-Gu Jeon, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Laser fabrication and crystallization of nano materials,” Submitted to *Proceeding of SPIE*.
- 12) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
“Ultrafast Dynamics of Photoactive Yellow Protein Via the Photo-excitation and Emission Processes,” *Photochem Photobiol.*, Vol.83, pp.397-402 (2007)
- 13) S. Yamamoto, O. Hisatomi, A. Hasegawa, Y. Kobayashi and F. Tokunaga
“Distribution and Translocation of Photoreceptor Gβγ-phosducin System in Medaka Retina,” *Photochem Photobiol.*, Vol.83, pp.35-39 (2007)

- 14) M. Mizuno, N. Hamada, F. Tokunaga, and Y. Mizutani
 "Picosecond Protein Response to the Chromophore Isomerization of Photoactive Yellow Protein: Selective Observation of Tyrosine and Tryptophan Residues by Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Spectroscopy," *J. Phys. Chem. B*, Vol.111, No. 23, pp. 6293-6296 (2007)
- 15) F. Coulibaly, E. Chiu, K. Ikeda, S. Gutmann, P. W. Haebel, C. Schulze-Briesse, H. Mori and P.Metcalf
 "The molecular Organization of Cypovirus Polyhedra," *Nature*, Vol. 446, pp. 97-101 (2007)
- 16) Y. Hosokawa, T. Kaji, C. Shukunami, Y. Hiraki, E. Kotani, H. Mori and H. Masuhara
 "In situ Micro-patterning of Proteinous Occlusion Bodies in Water by Femtosecond Laser-Induced Mechanical Force," *Biomedical Microdevices*, Vol. 9, No.2, pp. 105-111 (2007)
- 17) S. Kondo, C. Shukunami, Y. Morioka, N. Matsumoto, R. Takahashi, J. Oh, T. Atsumi, A. Umezawa, A. Kudo, H. Kitayama, Y. Hiraki and M. Noda
 "Dual Effects of the Membrane-anchored MMP Regulator RECK on Chondrogenic Differentiation of ATDC5 Cells," *J. Cell Sci.*, Vol. 120, No. 5, pp. 849-857 (2007)
- 18) H. Masuhara, T. Asahi and Y. Hosokawa
 "Laser Nano Chemistry", *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 78, pp. 2205-2226 (2007)
- 19) Y. Jiang, Y. Wang, Y. Matsumoto, Y. Hosokawa and H. Masuhara
 "Spatial Light Modulating and Multi-trapping with a DMD," *Modern Physics Letters B*, Vol.21, No. 4, pp. 175-181 (2007)
- 20) Y. Hosokawa, T. Kaji, C. Shukunami, Y. Hiraki, E. Kotani, H. Mori and H. Masuhara
 "Nondestructive Micro-Patterning of Proteinous Occlusion Bodies in Water by Femtosecond Laser-Induced Mechanical Force," *Biomedical Microdevices*, Vol. 9, pp. 1387-2176 (2007)
- 21) M. Kashii, Y. Hosokawa, H. Kitano, H. Adachi, Y. Mori, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, K. Sugamoto, H. Yoshikawa, T. Sasaki and H. Masuhara
 "Femtosecond Laser-induced Cleaving of Protein Crystal in Water Solution," *Applied Surface Science*, Vol. 253, Issue 15, pp. 6447-6450 (2007)
- 22) K. Nakamura, Y. Sora, H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, Y. Mori, T. Sasaki and H. Masuhara
 "Femtosecond Laser-induced Crystallization of Protein in Gel Medium," *Applied Surface Science*, Vol. 253, Issue 15, pp. 6425-6429 (2007)
- 23) R. Yasukuni, J.-A. Spitz, R. M.-Renault, T. Negishi, T. Tada, Y. Hosokawa, T. Asahi, C. Shukunami, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Realignment Process of Actin Stress Fibers in Single Living Cells Studied by Focused Femtosecond Laser Irradiation," *Applied Surface Science*, Vol. 253, Issue 15, pp. 6416-6419 (2007)
- 24) K. Nakamura, Y. Hosokawa and H. Masuhara
 "Anthracene Crystallization Induced by Single-shot Femtosecond Laser Irradiation: Experimental Evidence for the Important Role of Bubbles," *Crystal Growth & Design*, Vol. 7, No. 5, pp. 885-889 (2007)
- 25) Y. Jiang, Y. Matsumoto, Y. Hosokawa, H. Masuhara and I. Oh
 "Trapping and Manipulation of a Single Micro-object in Solution with Femtosecond Laser-induced Mechanical Force," *Applied Physics Letters*, Vol. 90, pp. 061107 (2007)
- 26) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
 "Double-Gated Spectral Snapshots for Biomolecular Fluorescence," *J. Lumin.*, Vol. 122-123 pp. 297-300 (2007)
- 27) Y. Imanishi, O. Hisatomi, S. Yamamoto, S. Satoh, S. Kotaka, Y. Kobayashi and F. Tokunaga
 "A Third Photoreceptor-specific GRK Found in the Retina of *Oryzias latipes* (Japanese killifish)," *Zoological Science* 24, pp. 87-93 (2007)
- 28) M. Unno, M. Kumauchi, F. Tokunaga and S. Yamauchi
 "Vibrational Assignment of 4-hydroxycinnamyl Chromophore in Photoactive Yellow Protein," *J. Phys. Chem. B*, Vol. 111, pp. 2719-272 (2007)
- 29) N. Hamada, R. Nakamura, H. Ijiri, Y. Takeda, F. Tokunaga, Y. Kanematsu and H. Mori
 "Protein Modules: Functional Proteins Incorporated in Viral Polyhedra," *Handai Nanophotonics Series Vol. 3*, Eds., H. Masuhara, S. Kawata, and F. Tokunaga, Elsevier, Amsterdam, pp. 311-323 (2007)

- 30) K. Ikeda, H. Nakazawa, A. Shimo-Oka, K. Ishio, S. Miyata, Y. Hosokawa, S. Matsumura, H. Masuhara, S. Belloncik, R. Alain, N. Goshima, N. Nomura, K. Morigaki, A. Kawai, T. Kuroita, B. Kawakami, Y. Endo and H. Mori
"Immobilization of Diverse Foreign Proteins in Viral Polyhedra and Potential Application for Protein Microarrays," *Proteomics*, Vol. 6, pp. 54-66 (2006)
- 31) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa and H. Masuhara
"Spatial Control of Organic Crystal Growth by Focused Femtosecond Laser Irradiation," *Crystal Growth & Design*, Vol. 6, pp. 302-305 (2006)
- 32) C. Matsubara, Y. Hosokawa, Y. Wang, H. Masuhara, K. Ikeda and H. Mori
"Individual Bonding of Biological Micromaterials in Water by UV Laser-Induced Polymerization of a Resin Layer in Water," *Indian Journal of Radiation Research*, Vol. 3, pp. 94-98 (2006)
- 33) Y. Hosokawa, T. Kaji, Y. Hiraki, H. Mori and H. Masuhara
"Non-destructive Micro-patterning of Protein Crystals by Focused Femtosecond Laser," *Proceeding of SPIE*, Vol. 6108, pp. 610805 (2006)
- 34) Y. Takahashi, H. Adachi, T. Taniuchi, M. Takagi, Y. Hosokawa, S. Onzuka, S. Brahadeeswaran, M. Yoshimura, Y. Mori, H. Masuhara, T. Sasaki and H. Nakanishi
"Organic Nonlinear Optical DAST Crystals for Electro-optic Measurement and Terahertz Wave Generation," *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, Vol. 183, pp. 247-252 (2006)
- 35) R. Nakamura, P. Wang, R. Fujii, Y. Koyama, H. Hashimoto and Y. Kanematsu
"Vibrational Relaxation Pathways in the Electronic Excited State of Carotenoid," *Journal of Luminescence*, Vol. 119-120, pp. 442-447 (2006)
- 36) N. Hamada, K. Matsumoto, K. Soda, R. Nakamura, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
"Inhomogeneity Observed in the Photocycle of Photoactive Yellow Protein," *Journal of Luminescence*, Vol. 119-120, pp. 122-126 (2006)
- 37) H. Mizuta, Satoshi Kudo, E. Nakamura, K. Takagi and Y. Hiraki
"Expression of the PTH/PTHrP Receptor in Chondrogenic Cells During the Repair of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage," *Osteoarthritis Cartilage*, Vol. 14, No. 9, pp. 944-952 (2006)
- 38) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, K. Suzuki, K. Ikeda, H. Mori and H. Masuhara
"Fluorescence Evaluation of Antigen-Antibody Reactivity on Surface of Orotinaceous Occlusion Body: Toward Application in Reusable Protein Chip," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 45, No. 1A, pp. 323-327 (2006)
- 39) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa and H. Masuhara
"Explosive Crystallization of Urea Triggered by Focused Femtosecond Laser Irradiation," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 45, No.1, pp. L23-L26 (2006)
- 40) Y. Hosokawa, H. Adachi, M. Yoshimura, Y. Mori, T. Sasaki and H. Masuhara
"Femtosecond Laser Induced Crystallization of 4 - dimethylamino - N-methyl - 4 - Stilbazolium Tosylate," *Crystal Growth & Design*, Vol.5, No.3, pp.861-863 (2005)
- 41) K. Takeuchi, H. Kitano, H. Adachi, Y. Mori and T. Sasaki, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, M. Doi, Y. Koga, K. Takano and S. Kanaya
"Protein Crystal Growth Using Laser-Processed Seed Crystals," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 44, No. 5A, pp. 3177-3179 (2005)
- 42) H. Adachi, K. Takano, A. Niino, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
"Solution Stirring Initiates Nucleation and Improves the Quality of Adenosine Deaminase Crystals," *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, ISSN, pp. 0907-4449 (2005)
- 43) H. Adachi, A. Niino, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
"Temperature-Screening System for Determining Protein Crystallization Conditions," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 44, No. 6A, pp. 4080-4083 (2005)
- 44) M. Kashii, H. Kitano, Y. Hosokawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, H. Masuhara, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, K. Sugamoto and H. Yoshikawa
"Femtosecond Laser Processing of Protein Crystals in Crystallization Drop," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 44, No. 27, pp. L873-L875 (2005)

- 45) Y. Hiraki and C. Shukunami
 "Angiogenesis inhibitors localized in hypovascular mesenchymal tissues: chondromodulin-I and tenomodulin," (Invited Review Article), *Connect. Tissue Res.*, Vol. 46, No.1, pp. 3-11 (2005)
- 46) H. Kitano, H. Matsumura, H. Adachi, S. Murakami, K. Takano, T. Inoue, Y. Mori, M. Doi, T. Sasaki
 "Protein Cryocrystallography Using Laser-Processed Crystal," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 44, No. 2, pp. L54-L56 (2005)
- 47) S. Sakami, O. Hisatomi, S. Sakakibara, J. Liu, T. A. Reh, F. Tokunaga
 "Downregulation of Otx2 in the Dedifferentiated RPE Cells of Regenerating newt Retina," *Developmental Brain Research*, vol.155, No. 1, pp.49-59 (2005)
- 48) C. Shukunami, Y. Oshima and Y. Hiraki
 "Chondromodulin-I and Tenomodulin: a new Class of Tissue-specific AngioGenesis Inhibitors Found in Hypovascular Connective Tissues," (Invited Review Article), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, pp. 333: 299-307 (2005)
- 49) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, S. Miura, C. Shukunami, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Nondestructive isolation of Single Cultured Animal Cells by Femtosecond Laser-induced Shockwave," *Applied Physics A*, Vol. 79, pp. 795-798 (2004)
- 50) H. Adachi, A. Niino, S. Murakami, K. Takano, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
 "Protein Crystallization by Combining Laser Irradiation and Solution-Stirring Techniques," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 44, pp. 1365 - 1366 (2005)
- 51) Y. Hosokawa, S. Matsumura, H. Masuhara, K. Ikeda, A. Shimo-oka, H. Mori
 "Laser Trapping and Patterning of Protein Microcrystals: Toward Highly Integrated Protein Microarrays," *Journal of Applied Physics*, Vol. 96, pp. 2945-2948 (2004)
- 52) M. Sugishima, N. Tanimoto, K. Soda, N. Hamada, F. Tokunaga and K. Fukuyama
 "Structure of Photoactive Yellow Protein (PYP) E46Q Mutant at 1.2 Å Resolution Suggests How Glu46 Controls the Spectroscopic and Kinetic Characteristics of PYP," *Acta Cryst.* Vol. D60, pp. 2305-2309 (2004)
- 53) S. F. El-Mashtoly, M. Unno, M. Kumauchi, N. Hamada, K. Fujiwara, J. Sasaki, Y. Imamoto, M. Kataoka, F. Tokunaga and S. Yamauchi
 "Resonance Raman Spectroscopy Reveals the Origin of an Intermediate Wavelength Form in Photoactive Yellow Protein," *Biochemistry*, Vol. 43, pp. 2279-2287 (2004)
- 54) M. Yaoi, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
 "Effects of Solution Stirring on Protein Crystal Growth," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 43, pp. L686 - L688 (2004)
- 55) H. Adachi, A. Niino, H. Matsumura, K. Takano, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
 "Generation of Protein Crystals Using a Solution-Stirring Technique," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 43, pp. L762 - L764 (2004)
- 56) M. Yaoi, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
 "Effect of Stirring Method on Protein Crystallization," *Japanese Journal of Applied Physics* Vol. 43, pp. L1318 - L1319 (2004)
- 57) H. Adachi, S. Murakami, A. Niino, H. Matsumura, K. Takano, T. Inoue, Y. Mori, A. Yamaguchi and T. Sasaki
 "Membrane Protein Crystallization Using Laser Irradiation," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 43, pp. L1376 - L1378 (2004)
- 58) A. Niino, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
 "Control of Protein Crystal Nucleation and Growth Using Stirring Solution," *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 43, pp. L1442 - L1444 (2004)
- 59) Y. Kobayashi, O. Hisatomi and F. Tokunaga
 "Phosphorylation of Teleost Phosducins and its Effect on the Affinity to G-protein Beta Gamma Subunits," *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 322, pp. 477-482 (2004)
- 60) R. Nakamura, R. Fujii, H. Nagae, Y. Koyama and Y. Kanematsu
 "Vibrational Relaxation in the 1B⁺u State of Carotenoids as Determined by Kerr-gate

- Fluorescence Spectroscopy,” *Chemical Physics Letters*, Vol. 400, pp. 7-14 (2004)
- 61) M. Unno, M. Kumauchi, N. Hamada, F. Tokunaga and S. Yamauchi
“Resonance Raman Evidence for Two Conformations Involved in the L Intermediate of Photoactive Yellow Protein,” *J. Biol. Chem.*, Vol. 279, No. 23, pp. 23855-23858 (2004)
 - 62) H. Chosrowjan, S. Taniguchi, N. Mataga, M. Unno, S. Yamauchi, N. Hamada, M. Kumauchi and F. Tokunaga
“Low-frequency Vibrations and their Role in Ultrafast Photoisomerization Reaction Dynamics of Photoactive Yellow Protein,” *J. Phys. Chem. B*, Vol. 108, pp. 2686-2698 (2004)
 - 63) Y. Hosokawa, S. Matsumura, H. Masuhara, K. Ikeda, A. Shimo-oka and H. Mori
“Protein Microarrays by Laser Patterning and Fixation of Single Protein Microcrystals: Implication for Highly Integrated Protein Chip,” *Journal of Applied Physics*, Vol. 96, pp. 2945-2948 (2004)
 - 64) R. Nakamura and Y. Kanematsu
“Femtosecond Spectral Snapshots Based on Electronic Optical Kerr Effect,” *Review of Scientific Instruments*, Vol. 75, No. 3, pp.636-644 (2004)
 - 65) H. Adachi, K. Takano, Y. Hosokawa, T. Inoue, Y. Mori, H. Matsumura, M. Yoshimura, Y. Tsunaka, M. Morikawa, S. Kanaya, H. Masuhara, Y. Kai and T. Sasaki
“Laser Irradiated Growth of Protein Crystal,” *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 42, Part. 2, No. 7B, pp. L798-800 (2003)

(2)その他の著作物 (総説、書籍など)

- 1) 細川陽一郎、安国良平、増原宏
「フェムト秒レーザーが可能とする細胞内加工とそのイメージング」
バイオプロセスハンドブック, NTS, 第3編, 第2章, pp. 368-376 (2007)
- 2) 細川陽一郎、安国良平、梶貴博、山口敦、井口世利也、朝日剛、増原宏
「集光フェムト秒レーザーが誘起する諸現象を利用した細胞制御技術」
レーザー研究, Vol. 35, No. 7, pp. 430-435 (2007)
- 3) 細川陽一郎、増原宏
「フェムト秒レーザーが拓くナノバイオ」フェムト秒テクノロジー, 化学同人, pp. 265-271 (2006)
- 4) H. Masuhara, Y. Hosokawa, H. Y. Yoshikawa, K. Nakamura, Y. Sora, Y. Mori, Y. Q. Jiang, I. Oh, T. Kaji, H. Morid, Y. Hirakie, A. Yamaguchi, T. Asahia
“Femtosecond Nonlinear Processing in Solution: From Crystallization to Manipulation and Patterning,” *Handai Nanophotonics*, Elsevier, Vol. 3, pp. 227-243 (2006)
- 5) Y. Hosokawa, R. Yasukuni, J.-A. Spitz, T. Tada, T. Negishi, A. Yamaguchi, C. Shukunami, Y. Hiraki, T. Asahi, R. Meallet-Renault and H. Masuhara
“Single Cell Processing in Water Using Focused Femtosecond Laser-Induced Shockwave and Cavitation Bubble,” *Handai Nanophotonics*, Vol. 3, Elsevier, pp. 245-254 (2006)
- 6) 吉川洋史、細川陽一郎、増原宏
「フェムト秒液中レーザーアブレーションによる尿素の結晶化」
レーザー加工学会誌、Vol. 13, No. 2, pp. 43-46 (2006)
- 7) 増原 宏、細川 陽一郎
「フェムト秒レーザーによる有機分子・たんぱく質の結晶化」
レーザープロセッシング応用便覧、エヌジーティー, pp. 549-553 (2006)
- 8) 増原宏・細川陽一郎
「レーザーが拓くナノバイオ」化学同人(2005)
- 9) 高野 和文、安達 宏昭、松村 浩由、井上 豪、森 勇介
「バイオクリスタルデザイン」生物物理45(1) P37-40、2005/01/25
- 10) 森 肇、中澤 裕、池田敬子
「昆虫ウイルスの多角体を用いたプロテインチップの開発ープロテインチップの考え方と作成法、利用法」昆虫テクノロジー研究とその産業利用 P66-77 シーエムシー出

版、2005/01/01

- 11) 細川陽一郎、高林淳一、宿南知佐、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザー衝撃波を用いた単一細胞加工」
レーザー加工学会誌, Vol. 11, pp. 190-192 (2004)
- 12) 安達宏昭、新納愛、北野博史、村上聡、高野和文、松村浩由、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「創晶プロジェクト～新しい蛋白質結晶育成技術の開発～」 構造生物 Vol. 10, No. 2, pp. 41-54 (2004)
- 13) 安達宏昭、高野和文、松村浩由、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「レーザー照射による蛋白質結晶成長制御」 日本結晶学会誌, Vol. 46, pp. 238-242 (2004)
- 14) T. Tada, C. Matubara, Y. Hosokawa, K. Ikeda, H. Mori and H. Masuhara
“Nanometer-Nanosecond Photothermal Heating and Cooling Dynamics of Polymer Films: Mechanism and Its Bio Application,” Fusion of Nanotechnology and Organic Semiconductor”, Olaf. Karthaus, PWC Publishing, P, pp. 26-36 (2004)
- 15) S. Ito, C. Matsubara, Y. Hosokawa, K. Ikeda, H. Mori and H. Masuhara
“Asennblinnng nano/bio materials by utilizing focused laser beams,” Nanophotonics, H. Masuhara and S. Kawata (Eds,) Elsevier, pp. 421-435 (2004)
- 16) Y. Hosokawa
“International Conference on Laser Ablation と NATO Advanced Study Institute,” 光化学, Vol. 35, No. 1, pp. 67-68 (2004)
- 17) S. Ito, Y. Hosokawa and H. Masuhara
“Laser Manipulation in Polymer Science,” Encyclopedia of Modern Optics, Elsevier, Vol. 1, pp. 38-46 (2004)
- 18) 細川陽一郎、高林淳一、宿南知佐、開祐司、増原宏
「フェムト秒レーザー誘起衝撃波による細胞操作」
レーザー研究, Vol. 32, No. 2, pp. 94-98 (2004)
- 19) 安達宏昭、細川陽一郎、増原宏、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
「短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化」
レーザー研究 Vol. 32, No. 2, pp. 84-88 (2004)
- 20) 開祐司、宿南知佐
「再生誘導にむけた組織幹細胞の増殖分化制御とレーザー技術」
レーザー研究, Vol. 32, No. 2, pp. 99-104 (2004)
- 21) 兼松泰男、中村亮介、濱田格雄、徳永史生
「光受容蛋白傾向分光測定への超高速カーゲート法の適用」
レーザー研究 Vol. 32, No. 2, pp. 78-83 (2004)
- 22) 森肇、池田敬子、中澤裕、細川陽一郎、増原宏
「昆虫ウイルス多角体へのタンパク質分子の固定化とレーザー加工による多角体のアレイ」 レーザー研究, Vol. 32, No. 2, pp. 89-93 (2004)
- 23) 徳永史生、濱田格雄、細川陽一郎、中村亮介、安達宏昭、兼松泰男、森勇介、佐々木孝友、増原 宏
「分子配列による蛋白モジュールの開発を目指して」
化学工業, Vol. 54, No. 1, pp. 30-39 (358-367) (2003)

(3)学会発表（国際学会発表及び主要な国内学会発表）

① 招待講演（国内会議 38 件、国際会議 25 件）

- 1) 細川陽一郎
「フェムト秒レーザによる細胞の非線形プロセッシング」 電気学会 光・量子デバイス研究会『フォトニック・バイオメディシン最前線：ここまでのレーザ医学・生物学 (III)』, 慶応義塾大学日吉キャンパス, 2008/2/8

- 2) H.Masuhara
“Laser fabrication and crystallization of nano materials,” Photonics West OPTO 2008, San Jose, California USA. 2008/1/19 - 24
- 3) H. Masuhahra, Y. Hosokawa,
“All Wet Femtosecond Laser Processing for Bio Application, ” Keio International Symposium on Photonics and Molecular Therapy, 6-7 August ,2007, Tokyo, Japan.
- 4) 細川陽一郎
「最新レーザを手とした顕微鏡下での細胞と蛋白質の操作」平成 18 年度第 5 回多元技術融合光プロセス研究会「レーザプロセスとバイオ・医学分野の融合」光産業技術振興協会, 2007/3/15
- 5) 細川陽一郎, 安國良平, 梶貴博, 開祐司, 森肇, 増原宏
「単一生細胞と蛋白質固体の水中フェムト秒レーザープロセッシング」レーザー学会 27 回年次大会、宮崎市フェニックスシーガイアリゾート、2007/1/17-18
- 6) 細川陽一郎, 増原宏
「レーザーを用いたナノ・バイオテクノロジー研究の基礎と最前線」第 19 回プラズマ・核融合学会専門講習会「レーザー・プラズマ複合技術の基礎と最前線」、東京工業大学 100 年記念館, 2006/12/22
- 7) 細川陽一郎
「フェムト秒レーザーが生体材料に誘起する諸現象と結晶作製応用への可能性」産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門 第 78 回 RICE セミナー、産業技術総合研究所池田サイト, 2006/12/15
- 8) 細川陽一郎, 吉川洋史, 中村和彦, 空洋介, 安達宏昭, 森勇介, 佐々木孝友, 増原宏
「フェムト秒レーザーが誘起する結晶化ダイナミクス」第 36 回結晶成長国内会議 (NCCG-36), 大阪大学, 2006/11/1-3
- 9) 細川陽一郎
「集光フェムト秒レーザーが有機・生体材料に誘起する諸現象とそのバイオメディカル応用への可能性」電気学会「次世代バイオメディカル・レーザ応用技術調査専門委員会」、大阪大学 銀杏会館, 2006/10/21
- 10) 森勇介、高野和文、安達宏昭、井上豪、村上聡、松村浩由、細川陽一郎、増原宏、佐々木孝友
「フェムト秒レーザー照射と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術」第 67 回応用物理学会学術講演会、立命館大学、2006/8/29-9/1
- 11) H. Masuhara and Y. Hosokawa
“Femtosecond Nonlinear Processes in Solution: from Crystallization to Manipulation of Bio-cells,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
- 12) 増原宏、細川陽一郎
「レーザーが拓くナノバイオサイエンス」第 55 回高分子学会年次大会、名古屋国際会議場, 2006/5/24-26
- 13) 増原 宏
「レーザーナノ化学：方法論の開発と分子系ナノダイナミクスの解明」, 第 58 回 日本化学
- 14) 増原宏レーザーナノ化学：方法論の開発と分子系ナノダイナミクスの解明, 日本化学会 第 86 春季年会 (2006), 日本大学船橋キャンパス, 2006/03/27
- 15) 増原 宏、細川陽一郎、朝日剛、吉川裕之
「レーザー光強励起によるナノプロセス」, 第 53 回 応用物理学関係連合講演会、武蔵工業大学, 2006/03/22
- 16) H. Masuhara and H. Yoshikawa
“Laser Manipulation and Assembling of Individual Nanoparticles in Solution, ”International Symposium onFrontiers in Organic Photonics (ISFOP), Sendai, Japan, 2006/03/01

- 17) 安達宏昭, 細川陽一郎, 増原 宏, 吉村政志, 森 勇介, 佐々木孝友
「短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化」[第 29 回レーザー学会賞・論文賞「解説部門」受賞記念講演, レーザー学会学術講演会第 26 回年次大会、大宮ソニックシティ、2006/02/09]
- 18) H. Masuhara
“Laser micro/nano chemistry”, Trombay Sympojium on Radiation & Photochemistry (TSRP-2006), 5-9 Janary 2006, , Mumbai, India, 2006/01/06
- 19) 開祐司
“軟骨細胞の分化と再生”, 第 6 回運動器科学研究会、静岡、2005/8/27-28
- 20) H. Masuhara
“Laser Nano Chemistry: From Spectroscopy to Manipulation,” XXII International Conference on Photochemistry, Cairns, Australia, 2005/7/24-29
- 21) 宿南知佐
シンポジウム 1 「マトリックス制御と形態形成・分化」: S4 テノモジュリンと腱・靱帯形成, 第 37 回日本結合組織学会学術大会、富山、2005/5/26-27
- 22) Y. Hosokawa, C. Matsubara, H. Y. Yoshikawa, K. Ikeda, H. Mori, H. Masuhara
“Laser Micro Patterning of Protein Microcrystals: Toward Highly Integrated Protein Chip and Micro Bio-Module,” International Conference on Lasers, Applications, and Technologies (LAT 2005), St. Petersburg, Russia, 2005/5/11-15
- 23) H. Masuhara and T. Asahi
“Spectroscopy and Photochemistry of Single Organic Nanoparticles,” U.S. DOE Single Molecule Workshop, Maryland, USA , 2005/4/10-12
- 24) 安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「創薬のための新しいタンパク質結晶育成法」第 23 回人工結晶学会特別講演会、2005/4/8
- 25) H. Masuhara, Y. Hosokawa, T. Asahi, T. Sugiyama and T. Tada
“Femtosecond Laser Ablation Study on Soft Materials: from Mechanism to Bio Application,” 6th International Symposium on Laser Precision Microfabrication 2005 (LPM2005), Williamsburg, USA, 2005/4/4-8
- 26) 安達 宏昭
「タンパク質結晶育成の新技术」, 平成 16 年度多元物質科学研究所若手研究会「精密科学～ものづくりから評価まで」2005/03/11
- 27) 安達 宏昭
“大阪大学創晶プロジェクトにおける産学連携による製品開発”, 平成 16 年度研究開発交流会 北大阪 RS ネット受注案件発表会, 2005/02/08
- 28) 多田拓司, 細川陽一郎、朝日剛、宿南知佐、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによる細胞内構造の局所破壊と全反射蛍光顕微鏡によるそのイメージング」, 特定領域研究「分子系の極微構造反応の計測とダイナミクス」第 2 回公開シンポジウム, 大阪大学銀杏会館、大阪, 2005/02/02
- 29) 安達宏昭、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
「有機・タンパク質における新しいレーザー応用」, レーザー学会学術講演会第 24 回年次大会 2005/01/29
- 30) 安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「核発生および溶液状態の制御によるタンパク質結晶育成」理研シンポジウム 構造生物学(X), 2005/01/27
- 31) H. Masuhara, Y. Hosokawa, T. Sugiyama, T. Asahi, Y. Hiraki
“Manipulation and Chemical Modification of Single Bio-cells by Femtosecond Laser Induced Shockwave”, Photonics West 2005, San Jose, California, USA, 2005/01/25
- 32) 安達 宏昭
「創晶プロジェクトータンパク質結晶化受託による大学発ベンチャー起業ー」, 平成 16 年度第 4 回フェムト秒超加工研究会「阪大におけるフェムト秒レーザー応用の起業」,

- 2005/01/18
- 33) 開祐司
「間葉の血管化制御と血管新生抑制因子」京都大学再生医科学研究所 平成 16 年度学術講演会, 2004/12/17
- 34) 徳永史生
シンポジウム:「はじめに～ナノバイオエンジニアリングの基礎としての生物物理学の位置づけ～」日本生物物理学会 42 回年会、京都、2004/12/12-13
- 35) 森肇、古山明子、宿南知佐、開祐司
シンポジウム:「細胞増殖因子を固相化したタンパク質モジュールを用いた細胞の分化誘導の試み」日本生物物理学会 42 回年会、京都、2004/12/12-13
- 36) H. Masuhara
“Molecular Nano Dynamics: A New Stream of Photochemistry in Nano Erea”, 2004 Korea-Japan Symposium on Frontier Photoscience ;Photochemistry and Nanotechnology”, 2004/11/23
- 37) 安達宏昭、新納愛、村上聡、松村浩由、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「レーザー核発生及び溶液攪拌による高品質タンパク質結晶の育成」, 第 49 回人工結晶討論会, 2004/11/10
- 38) 細川陽一郎
「集光レーザービームを用いた単一細胞のマイクロ・ナノ加工」, 産総研ナノバイオ分野人材養成ユニット セミナー, 独立行政法人 産業総合研究所 関西センター, 2004/10/22
- 39) 安達宏昭
「レーザー核発生および溶液攪拌によるタンパク質結晶育成」, 日本学術振興会回折構造生物第 169 委員会の第 14 回研究会, 2004/09/26
- 40) Hiroshi Masuhara
“Laser micromanipulation of individual microparticles, nanoparticles and dendrimer gels in solution”, Symposium in honour of Prof. Jan Mewis Rheology and microstructure of complex fluid system, 2004/09/22
- 41) 森勇介、安達宏昭、高野和文、井上豪、松村浩由、村上聡、佐々木孝友
「レーザー核発生と溶液攪拌によるタンパク質結晶」, 日本生物工学会平成 16 年度大会, 2004/09/21
- 42) 安達 宏昭
「新しい蛋白質結晶育成技術の開発」, 近畿バイオ関連産業プロジェクト 連携促進事業「技術シーズ公開会」, 2004/09/13
- 43) H. Masuhara
“Spectroscopy and Photochemistry of Single Nanoparticles”, Symposium Frontiers in Photophysics and Photochemistry, 2004/09/12
- 44) 安達 宏昭
「レーザー核発生、及び溶液攪拌を用いた高品質タンパク質結晶成長」, 第 34 回結晶成長国内会議(NCCG-34), 2004/08/25
- 45) 安達 宏昭
「創薬のための新しい高品質タンパク質結晶育成技術」, 第 2 回ナノフォトニクス公開セミナー, 2004/07/30
- 46) H. Masuhara and T. Asahi
“Spectroscopy and Photochemistry of Single Nanoparticles: From Gold to Organic Crystal”, 2nd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS 2004) 2004/07/27
- 47) H. Masuhara, T. Asahi, T. Sugiyama, S. Ito, and H. Matsune
“Laser Fabrication, Spectroscopy, and Patterning of Nanoparticles”, The 205th Meeting of The Electrochemical Society, 2004/05/11
- 48) H. Masuhara, Y. Hosokawa, and J. Takabayashi
“Manipulation and Chemical Modification of Single Bio-cells by Femtosecond Laser Induced

- Shockwave”, SPIE High-Power Laser Ablation 2004
- 49) 開祐司
「間葉系組織の血管化制御」第7回 Cardiovascular Research Forum (CVRF) 2004/12/12
 - 50) 細川 陽一郎
「単一生細胞と蛋白質のフェムト秒レーザープロセッシング」LASER EXPO2004 レーザー学会特別技術セミナー、2004/04/28
 - 51) 森勇介、安達宏昭、吉村政志、佐々木孝友
「高品質無機・有機・タンパク質結晶の育成技術」2003 年度宇宙材料フォーラム講演会 2004/02/05
 - 52) H. Masuhara, T. Tada, Y. Hosokawa, and C. Matubara
“Spectroscopic and Photophysical Studies on Laser Ablation of Polymer Films: Containing Azobenzene Chromophore”, Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (TSRP-2004) 2004/01/11
 - 53) 細川陽一郎
「集光フェムト秒レーザーによる単一生細胞およびマイクロ蛋白結晶の非破壊加工」第2回バイオフィotonicsワークショップ「イメージング、微細加工技術との接点」2003/12/16
 - 54) 細川陽一郎
「集光フェムト秒レーザーを用いた生体材料の特殊微細加工の試み」第29回フォトニクス・フォーラム、2003/12/10
 - 55) H. Masuhara
“Mechanism, New Phenomena, and Bio-application of Femtosecond Laser Ablation”, International Conference on Materials for Advanced Technologies (ICMAT 2003), 2003/12/07
 - 56) T.Tada, C.Matubara, Y.Hosokawa, K.Ikeda, H.Moro, and H. Masuhara
“Nanometer-Nanosecond Photothermal Heating and cooling Dynamics of Polymer Films : Mechanism and Its Bio Application”, 4th Chitose International Forum on Photonics Science & Technology, chitose, Japan, 2003/12/03
 - 57) Y. HOSOKAWA, J. TAKABAYASHI, T. OMOTO, T. ADACHI, K. FUJIYAMA, T. SEKI, and H. MASUHARA
“Nondestructive Manipulation of Single Live Plant Cell by Laser Induced Micro Shockwave”, International Colloquium on Plant Biotechnology toward Further Progress in Agriculture Productivity (ICOPB), リーガロイヤル堺および大阪府立大学, 2003/11/21
 - 58) 細川陽一郎
「フェムト秒レーザーショックウェーブによる細胞の非破壊操作」, 電気学会「次世代レーザープロセッシングとその産業応用調査専門委員会」, 2003/11/14
 - 59) H. Masuhara, T. Asahi, T. Sugiyama, and H. Kawai
“Laser Spectroscopy and Fabrication of Organic Materials toward Nanotechnology”, 9th Japan-Belgium Symposium on Polymer Science, 2003/11/09
 - 60) H. Masuhara, T. Asahi, T. Sugiyama. and H. Kawai
“Organic nanoparticles: Fabrication, characterization, and dynamics by laser”, 7th International Conference on Organic Nonlinear Optics / International Conference on Organic Photonics and Electronics (ICONO'7 /ICOPE 2003), 2003/11/04
 - 61) H. MASUHARA, Y. HOSOKAWA, T. Asahi,
“Mechanism and Bio-application of Femtosecond Laser Ablation”, Japan-France Conference on Molecular Photonics and Biophotonics at Micro and Nano-scale, 淡路島夢舞台カンファレンスセンター, 2003/10/28
 - 62) Y. Hosokawa
“Biological application of femtosecond laser induced shockwave in culture medium”, Seminars of Institut d'Alembert, Ecole Normale Supérieure in Cachan, 2003/10/13
 - 63) H.Masuhara, T.Asahi, T. Itoh, S. Ito, Y. Tamaki
“Spectroscopy, photochemistry, and fabrication of single nanoparticles”, The International Nanophotonics Symposium Handai, 2003/07/24

② 口頭発表

(国内会議 85 件、国際会議 20 件)

- 1) 細川陽一郎、瀧澤典子、宇和田貴之、岡野和宣、増原宏
「集光フェムト秒レーザーを利用した生体材料のマイクロパターニング 4－動物培養細胞の分化誘導過程による細胞非破壊性の評価－」第 55 回応用物理学関係連合講演会、日本大学船橋キャンパス、2008/3/27-30
- 2) 兼松泰男、中村亮介、市田秀樹、濱田格雄、菅原洋子、安宅光男、占部久子
「蛋白質結晶のテラヘルツ振動」日本物理学会第 63 回年次大会、近畿大学、2008/3/22-26
- 3) 細川陽一郎、瀧澤典子、宇和田貴之、岡野和宣、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによるラット褐色腫由来細胞のパターニング過程」レーザー学会学術講演会第 28 回年次大会、名古屋国際会議場、2008/1/30-2/1
- 4) T. Uwada, Y. Hosokawa, N. Takizawa, K. Okano, H. Masuhara
“Organic molecular sensing by single metal porphyrin nanoparticles,” Photonics West BiOS 2008, San Jose, California USA. 2008/1/19-24
- 5) K. Okano, N. Takizawa, T. Uwada, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Smart bombing a single targeted cell with femtogram order reagents using laser-induced shockwave technique,” Photonics West BiOS 2008, San Jose, California USA. 2008/1/19-24
- 6) N. Takizawa, K. Okano, T. Uwada, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Viability evaluation of culture cells patterned by femtosecond laser-induced impulsive force,” Photonics West BiOS 2008, San Jose, California USA. 2008/1/19-24
- 7) 細川陽一郎、中村和彦、増原宏
「高速画像計測によるアントラセンのフェムト秒パルス誘起結晶化ダイナミクスの研究」2007 年光化学討論会、信州大学、2007/9/26-28
- 8) 細川陽一郎、梶貴博、宇和田貴之、瀧澤典子、岡野和宣、伊都将司、宮坂博、増原宏
「集光フェムト秒レーザーを利用した生体材料のマイクロパターニング 3-フェムト秒レーザー誘起衝撃波・キャビテーションバブルの細胞非破壊性の実証-」第 68 回応用物理学会学術講演会、北海道工業大学、2007/9/4-8
- 9) 濱田格雄、中村亮介、井尻宏志、中井大介、赤木祐一郎、日比華子、広畠利江、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男、森 肇
「昆虫ウイルス由来タンパク質ポリヘドリンを用いた外来タンパク質固定化技術の開発」(ポスターセクション), 日本生物物理学会第 45 回年会, パシフィコ横浜, 2007/12/21-23
- 10) 久富修、長谷川浩二、後藤達志、琴浦真理、北野大輔、徳永史生、林文夫
「bHLH 転写因子の実時間解析」(ポスターセクション), 日本生物物理学会第 45 回年会, パシフィコ横浜, 2007/12/21-23
- 11) 水野操、濱田格雄、徳永史生、水谷泰久
「イエロープロテインにおける光誘起構造変化の高速伝播: ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光による観測」(ポスターセクション) 日本生物物理学会第 45 回年会, パシフィコ横浜, 2007/12/21-23
- 12) 武藤清佳・小谷英治・松本恵美・田辺 徹・斎藤磨希・森 肇
「ハスモンホトウ類細胞における RNA 結合タンパク質 (SfTRN-1) の発現解析」日本蚕糸学会、第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、京都工芸繊維大学、2007/10/8,9
- 13) 松本恵美・小谷英治・武藤清佳・田辺 徹・斎藤磨希・森 肇
「BmTRN-1 強制発現カイコの作出とその表現型の解析」日本蚕糸学会、第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、京都工芸繊維大学、2007/10/8,9
- 14) 日比華子・中井大介・古佐賀 優・濱田格雄・小谷英治・森 肇
「多角体の立体構造情報に基づく変異体の作製および解析」日本蚕糸学会、第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、京都工芸繊維大学、2007/10/8,9
- 15) 井尻宏志・濱田格雄・武田悠吾・中井大介・廣畠利江・日比華子・足立卓彦・西村彦人・仲谷 豪・古佐賀 優・森 肇

- 「昆虫ウイルス多角体への固定化シグナルである H1 と VP3 の比較」日本蚕糸学会、第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、京都工芸繊維大学、2007/10/8,9
- 16) 廣島利江・濱田格雄・井尻宏志・武田悠吾・西村彦人・小谷英治・森 肇
「VEGF 固定化多角体を用いた HUVEC の増殖・分化誘導」日本蚕糸学会、第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、京都工芸繊維大学、2007/10/8,9
- 17) R. Nakamura, Y. Izumi, S. Kajiyama, A. Kobayashi and Y. Kanematsu
“Line-scanning Microscopy for Time-gated and Spectrally-Resolved Fluorescence Imaging,”
6th International Conference of Biological Physics, Montevideo, Uruguay, 2007/8/27-31
- 18) 中村和彦、細川陽一郎、吉川洋史、安達宏昭、森勇介、佐々木孝友、増原宏
「集光フェムト秒レーザー誘起結晶化におけるパルス幅依存性」第 54 回 応用物理学関係連合講演会、青山学院大学、2007/3/27-30
- 19) 細川陽一郎、井口世利也、朝日剛、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによる単一動物細胞へのプラスミド導入」日本化学会第 87 春季年会、関西大学、2007/3/25-28
- 20) 岡本健太郎、中村亮介、市田秀樹、濱田格雄、岡村高明、兼松泰男、山本仁
「光カーゲート法を用いた超高速時間分解蛍光測定による Photoactive Yellow Protein 光反応初期過程の検討」日本化学会第 87 春季年会、関西大学千里山キャンパス、2007/3/25-28
- 21) 中村亮介、鈴木美穂、丑田公規、兼松泰男
「多重蛍光プローブ追跡のための多次元蛍光分光」2007 年春季・第 54 回応用物理学関係連合講演会、青山学院大学、2007/3/27
- 22) 和泉自泰、福崎英一郎、梶山慎一郎、中村亮介、兼松泰男、石原亨、小林昭雄
「シングルセル代謝分析に基づいた植物感染応答反応の動的解析」日本農芸化学会 2007 年度大会、東京農業大学、2007/3/24-27
- 23) 兼松泰男、中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生
「パンプ・ダンプ蛍光分光による光受容蛋白の初期ダイナミクス」日本物理学会 2007 年春季大会、鹿児島大学、2007/3/23
- 24) 岡本健太郎、中村亮介、市田秀樹、濱田格雄、岡村高明、山本仁、兼松泰男
「光受容蛋白質における水素結合ネットワークが発色団電子状態に与える影響」日本物理学会 2007 年春季大会、鹿児島大学、2007/3/23
- 25) 松山昭彦、竹谷豊、山中千博、徳永史生
「電子スピン共鳴によるメラニンラジカルの熱安定性」第 45 回電子スピンサイエンス学会、京都工芸繊維大学、2006/11/14-16
- 26) 市田秀樹、中村亮介、菅原洋子、占部久子、兼松泰男
“The First Observation of THz Time-domain Reflection Spectra of Lysozyme Crystals,” 日本生物物理学会第 44 回年会（第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議）沖縄コンベンションセンター、2006/11/13-16
- 27) 位田卓、市田秀樹、中村亮介、濱田格雄、兼松泰男、徳永史生
“Enhancement of Photoreaction in Photoactive Yellow Protein by Infrared Laser Pulse Irradiation,” 日本生物物理学会第 44 回年会（第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議）沖縄コンベンションセンター、2006/11/13-16
- 28) 兼松泰男、中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生
“Pump-dump Fluorescence Spectroscopy for Photoactive Yellow Protein,” 日本生物物理学会第 44 回年会（第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議）沖縄コンベンションセンター、2006/11/13-16
- 29) O. Hisatomi, M. Kotoura, D. Kitano, T. Goto, A. Hasegawa, E. Ono and F. Tokunaga
“DNA-binding Proteins Expressed in Regenerating Newt Retina,” 日本生物物理学会第 44 回年会（第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議）沖縄コンベンションセンター、2006/11/13-16
- 30) 吉川洋史、村井良多、北谷友也、安達宏昭、高野和文、井上豪、松村浩由、村上聡、

- 細川陽一郎、増原宏、森勇介、佐々木孝友
「タンパク質結晶のフェムト秒レーザーアブレーションによる単結晶成長誘導」第 36 回結晶成長国内会議 (NCCG-36)、大阪大学、2006/11/1-3
- 31) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男
「光受容蛋白質の PUMP-DUMP 分光」日本物理学会 2006 年秋季大会、千葉大学、2006/9/23-26
 - 32) 岡本健太郎、中村亮介、市田秀樹、濱田格雄、岡村高明、山本仁、兼松泰男
「水素結合ネットワークによる光受容蛋白質の電子状態制御」日本物理学会 2006 年秋季大会、千葉大学、2006/9/23-26
 - 33) 兼松泰男、市田秀樹、中村亮介、菅原洋子、占部久子
「THz 反射分光法を用いたリゾチーム結晶における低振動数モードの観測」日本物理学会 2006 年秋季大会、千葉大学、2006/9/23-26
 - 34) 位田卓、市田秀樹、濱田格雄、中村亮介、兼松泰男、徳永史生
「光受容蛋白質 PYP の光反応サイクルに対する赤外光照射効果」日本物理学会秋季大会、千葉大学、2006/9/23-26
 - 35) 小野英理、長谷川明之、徳永史生、久富修
「網膜神経回路の形成過程で stathmin ファミリー蛋白質の動態」第 77 回日本動物学会 2006/9/21-24
 - 36) 北野大輔、琴浦真理、後藤達志、徳永史生、久富修
「イモリの網膜再生過程で働く転写調節因子 NeurD4 の解析」第 77 回日本動物学会大会、島根大学松江キャンパス、2006/9/21-24
 - 37) 後藤達志、久富修、琴浦真理、徳永史生
「イモリの網膜再生過程で誘導される Hn1 遺伝子の解析」第 77 回日本動物学会、島根大学松江キャンパス、2006/9/21-24
 - 38) 北林孝之、上野貢生、三澤弘明、細川陽一郎、増原宏、脇谷滋之、藤原政司、高木睦
「フェムト秒レーザーを利用した単一接着細胞の遺伝子発現解析」日本生物工学会 平成 18 年度大会、大阪大学、2006/9/11-13
 - 39) H. Y. Yoshikawa, M. Kashii, R. Murai, Y. Hosokawa, H. Masuhara, H. Adachi, T. Inoue, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori and T. Sasaki
“Femtosecond Laser Processing of Protein Crystals in Solution,” 5th International Conference on Photo-Excited Processes and Applications (5th ICPEPA), Virginia, USA, 2006/9/3-7
 - 40) 高田英一郎、横野博久、小柳光正、寺北明久、徳永史生
「ハマダラカに存在する機能未知光受容蛋白質・エンセファロプシンの単離と機能解析」日本進化学会 2006 年大会、東京、2006/8/29-31
 - 41) 高野浩輔、小柳光正、大津浩三、寺北明久、徳永史生
「腔腸動物の光受容蛋白質の同定とオプシン遺伝子族の分子進化」日本進化学会 2006 年大会、2006/8/29-31
 - 42) 永田崇、小柳光正、山下茂樹、徳永史生
「ハエトリグモの 4 層構造網膜における物質発現解析」日本比較生理生化学会第 28 回大会、浜松、2006/7/27-29
 - 43) 久富修、後藤達志、長谷川明之、小野英理、琴浦真理、北野大輔、徳永史生
「イモリ網膜の再生過程における分子動態」日本比較生理生化学会第 28 回大会、浜松、2006/7/27-29
 - 44) N. Hamada, K. Matsumoto, R. Nakamura, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
“Spectroscopic Study of Interaction between Molecular Probes and Photoactive Yellow Protein,” (Poster Selection) 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, 2006/6/4-8
 - 45) T. Nagata, M. Koyanagi, S. Yamashita and F. Tokunaga
“Molecular Evolution of Arthropod Color Vision Deduced from Multiple Opsin Genes of Jumping Spiders,” 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai

- International Conference Center, Hyogo, 2006/6/ 4-8
- 46) A. Hasegawa, O. Hisatomi, E. Ono, S. Yamamoto and F. Tokunaga
 “Expression of Stathmin in Regenerating newt Retina,” 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, 2006/6/ 4-8
 - 47) T. Goto, O. Hisatomi, M. Kotoura and F. Tokunaga
 “Analyses of Genes Induced in Retinal Pigment Epithelium During Newt Retina Regeneration,” 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, 2006/6/4-8
 - 48) Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa and H. Masuhara
 “Crystal Growth Control of Organic and Protein Molecules by Focused Femtosecond Laser Irradiation,” The 4th International Congress on Laser Advanced Materials Processing (LAMP2006), Kyoto, 2006/5/16-19
 - 49) T. Kaji, Y. Hosokawa, H. Mori and H. Masuhara
 “Micro-patterning of Individual Polyhedra Using Femtosecond Laser Ablation of Water,” The 4th International Congress on Laser Advanced Materials Processing (LAMP2006), Kyoto, 2006/5/16-19
 - 50) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男
 「蛋白質の光誘起構造変調 III」日本物理学会第 61 回年次大会、愛媛大学・松山大学、愛媛、2006/ 3 /27-30
 - 51) 細川陽一郎、梶貴博、増原宏
 「集光フェムト秒レーザーを利用した生体材料のマイクロパターニング 2 –高開口数対物レンズによりフェムト秒レーザーを水に集光したときの特性–」第 53 回応用物理関係連合講演会、武蔵工業大学、2006/03/22
 - 52) 細川陽一郎、中村和彦、吉川洋史、増原宏
 「集光フェムト秒レーザーにより励起される分子凝集と結晶化のメカニズム検討」第 53 回応用物理関係連合講演会、武蔵工業大学、2006/03/22
 - 53) 吉川洋史、細川陽一郎、増原宏
 「フェムト秒レーザーアブレーションによるタンパク質結晶の液中極微単離」第 53 回応用物理関係連合講演会、武蔵工業大学、2006/03/22
 - 54) 細川陽一郎、中村和彦、増原宏
 「アントラセンを用いたフェムト秒レーザー誘起結晶化のメカニズム検討」レーザー学会学術講演会第 26 回年次大会、大宮ソニックシティ、2006/02/09
 - 55) 吉川洋史、細川陽一郎、増原宏
 「フェムト秒レーザーアブレーションによる過飽和溶液中の有機・タンパク質結晶の操作」レーザー学会学術講演会第 26 回年次大会、大宮ソニックシティ、2006/02/09
 - 56) 梶山慎一郎、和泉自泰、石原亨、中村亮介、兼松泰男、福崎英一郎、小林昭雄
 「励起・蛍光時間マトリクスと 1 細胞サンプリングによるエンバク感染応答反応の解析」日本農芸化学会 2006 年度大会、京都女子大学、京都、2006/3/25-28
 - 57) Y. Hosokawa, T. Kaji, Y. Hiraki, H. Mori and H. Masuhara
 “Non-destructive Micro-patterning of Protein Crystals by Focused Femtosecond Laser,” Proceeding of SPIE for Photonics West 2006, San Jose, USA, 2006/1/21-26
 - 58) H. Masuhara, Y. Hosokawa, T. Tada, T. Asahi
 “A femtosecond laser-induced shockwave study on morphological dynamics of single living cells,” The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2005), Honolulu, USA. 2005/12/15-20
 - 59) 森 勇介、安達宏昭、吉村政志、増原 宏、細川陽一郎、佐々木孝友
 「短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化」第 98 回微小光学研究会、キャンパスプラザ京都、2005/12/2
 - 60) 細川陽一郎、梶貴博、増原宏
 「集光フェムト秒レーザーを利用した生体材料のマイクロパターニング」レーザー学会第 343 回研究会、広島ガーデンパレス、2005/12/12

- 61) 濱田格雄、中村亮介、市田秀樹、松本健吾、徳永史生、兼松泰男
「光受容蛋白質の蛍光励起エネルギー移動の解析」日本物理学会 2005 年度秋季大会、
京都、2005/9/19-22
- 62) 根岸貴幸、多田拓司、山口敦、細川陽一郎、朝日剛、宿南知佐、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザー照射による単一細胞の局所破壊と細胞内構造変化」2005 年光
化学討論会、福岡、2005/9/12-14
- 63) 細川陽一郎、吉川 洋史、中村 和彦、増原 宏
「集光フェムト秒レーザーによる有機分子・蛋白質の結晶化」2005 年光化学討論会、福
岡、2005/9/12-14
- 64) 梶 貴博、細川 陽一郎、開 祐司、増原 宏
「集光フェムト秒レーザーを利用した培養細胞のマイクロパターニング」第 66 回応用
物理学会学術講演会、徳島、2005/9/7-11
- 65) 井口世利也、安國良平、細川陽一郎、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによる単一動物細胞への異物質導入」第 66 回応用物理学会
学術講演会、徳島、2005/9/7-11
- 66) 安國良平、細川陽一郎、朝日剛、増原宏、J.-A. Spitz, S. Badr, M. Takano, C. Baratti-Elbaz, R.
Mallet-Renault, J.-J. Vachon, R. Pansu, C. Auclair
「アクチンフィラメントの蛍光寿命・偏光度イメージング」第 66 回応用物理学会学術
講演会、徳島、2005/9/7-11
- 67) 大本剛、細川陽一郎、山戸俊幸、松本由多加、佐藤節哉、王勇、増原宏
「レーザーマイクロプロセス技術を駆使した細胞融合手法の展開」第 66 回応用物理学
会学術講演会、徳島大学、2005/9/7-11
- 68) R. Nakamura, P. Wang, R. Fujii, Y. Koyama, H. Hashimoto and Y. Kanematsu
“Vibrational Relaxation Pathways in the Electronic Excited State of Carotenoid,” 15th
International Conference on Dynamical Processes in Excited States of Solids (DPC'05), Shanghai,
China, 2005/8/1-5
- 69) K. Nakamura, Y. Hosokawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki and H. Masuhara
“Systematic Studies on Femtosecond Laser-induced Crystallization for Hen Egg-white
Lysozyme,” XXII International Conference on Photochemistry, Cairns, Australia, 2005/7/24-29
- 70) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
“Double-Gated Spectral Snapshots for Biomolecular Fluorescence,” The 14th International
Conference on Luminescence (ICL'05), Beijing, China, 2005/7/25-29
- 71) 村井良多、安達宏昭、高野和文、村上聡、松村浩由、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「蛋白質結晶の育成における最適温度条件の探索」第 5 回日本タンパク質科学会年会、
福岡、2005/6/30-7/2
- 72) 泉真一朗、西崎有利子、宿南知佐、古谷 - 清木誠、桃井章裕、北川章、近藤寿人、
開祐司
「ゼブラフィッシュにおける chondromodulin2 の発現解析」日本発生生物学会第 38 回大
会、仙台、2005/6/2-4
- 73) M. Kashii, H. Kitano, Y. Hosokawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, and H. Yoshikawa
“Femtosecond Laser Processing of Lysozyme Crystals,” International Quantum Electronics
Conference 2005 and the Pacific Rim Conference on Lasers and Electro-Optics 2005
(IQEC/CLEO-PR 2005), 2005/07/11
- 74) Y. Hosokawa, H. Y. Yoshikawa, K. Nakamura and H. Masuhara
“Crystallization of Organic Molecule and Protein by Focused Femtosecond Laser,” 6th
International Symposium on Laser Precision Microfabrication 2005 (LPM2005), Williamsburg,
USA., 2005/4/4-8
- 75) 大本剛、細川陽一郎、山戸俊幸、松本由多加、佐藤節哉、増原宏
「レーザーマイクロプロセス技術を駆使した細胞融合手法の開発」第 52 回 応用物理
学関係連合講演会、2005/03/29
- 76) 多田拓司、細川陽一郎、朝日剛、宿南知佐、開祐司、増原宏

- 「集光フェムト秒レーザーによる細胞内構造の局所破壊と全反射蛍光顕微鏡によるそのイメージング」第 52 回 応用物理学関係連合講演会、2005/03/29
- 77) 梶貴博、細川陽一郎、森肇、開祐司、増原宏
「多角体のパターンニングとパターン上での細胞増殖制御」第 52 回 応用物理学関係連合講演会、2005/03/29
- 78) 中村 和彦、細川 陽一郎、新納 愛、安達 宏昭、森 勇介、佐々木 孝友、増原 宏
「集光フェムト秒レーザービームを用いた蛋白質の結晶核生成」第 52 回 応用物理学関係連合講演会、2005/03/29
- 79) 松原千恵、細川陽一郎、王勇、増原宏
「集光 UV パルスレーザーによる光重合を利用した高分子薄膜表面への色素の吸着量および位置制御」第 52 回 応用物理学関係連合講演会、2005/03/29
- 80) 吉川洋史、細川陽一郎、増原宏
「フェムト秒レーザー集光照射による有機結晶の局所成長誘起～波長・パルス幅効果～」第 52 回 応用物理学関係連合講演会、2005/03/29
- 81) 濱田格雄、曾田幸司、松本健吾、市田秀樹、中村亮介、兼松泰男、徳永史生、森肇
「蛋白質の相互作用評価Ⅱ」日本物理学会第 60 回年次大会、東京、2005/3/24-27
- 82) 肥後輝明、安達宏昭、谷内哲夫、S. Brahadeeswaran、高橋義典、高木将行、隠塚信次、吉村政志、森 勇介、中西八郎、佐々木孝友
「テラヘルツ波発生用高品質 DAST 結晶の開発」レーザー学会学術講演会第 25 回年次大会、けいはんなプラザ、京都、2005/1/20-21
- 83) 西崎有利子、泉真一郎、宿南知佐、古谷-清木誠、桃井章裕、北川章、近藤寿人、開祐司
「ゼブラフィッシュにおける Chondromodulin-II の発現解析」、第 52 回マトリックス研究会、大分、2005/03/19
- 84) 安達宏昭
「タンパク質結晶の光ソフトプロセッシング技術の開発」(財)新世代研究所 第 11 回 (平成 15 年度) 研究助成成果報告会、東京、2004/12/2
- 85) 細川陽一郎、大本剛、安國良平、増原宏
「集光フェムト秒レーザー誘起衝撃波を用いた単一細胞加工」2004 年秋季第 65 回応用物理学会、2004/09/01
- 86) 吉川洋史、細川陽一郎、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによる有機結晶成長誘起」2004 年秋季第 65 回応用物理学会、2004/09/01
- 87) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, Y. Kanematsu and F. Tokunaga
“Entire View of Coherent Oscillations in Ultrafast Fluorescence for Photoactive Yellow Protein,” 14th International Conference on Ultrafast Phenomena, Niigata, 2004/7/25-30
- 88) 安達宏昭
「溶液状態制御による大型タンパク質結晶創製システムの開発」第 8 回黎明研究報告会、日本原子力研究所東海研究所、茨城、2004/6/29-30
- 89) 曾田幸司、濱田格雄、中村亮介、市田秀樹、兼松泰男、徳永史生
「蛍光測定による光受容蛋白質の光反応過程追跡」日本物理学会第 59 回年次大会、福岡、2004/3/27-30
- 90) 吉川洋史、細川陽一郎、池田敬子、森肇、増原宏
「多角体タンパク質結晶を用いた再生可能プロテインチップ」第 51 回応用物理学関係連合講演会、2004/03/27
- 91) 高林淳一、細川陽一郎、三浦重徳、宿南知佐、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザービームを用いた単一細胞の操作(5)- 単一動物細胞と細胞外マトリックスとの吸着力の評価-」第 51 回応用物理学関係連合講演会、2004/03/30
- 92) 安國良平、高林淳一、細川陽一郎、三浦重徳、西崎有利子、宿南知佐、開祐司、増原宏

- 「フェムト秒レーザー誘起衝撃波による動物細胞への遺伝子導入」第 51 回応用物理学関係連合講演会、2004/03/30
- 93) 高木将行、肥後輝明、長岡一聡、S.Brahad、安達宏昭、細川陽一郎、増原宏、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
「フェムト秒レーザーを用いた有機非線形光学結晶 DAST の育成」第 51 回応用物理学関係連合講演会、2004/03/30
- 94) 中村亮介、市田秀樹、濱田格雄、兼松泰男、徳永史生
「光カーシャッターを用いたフェムト秒時間分解蛍光法と蛋白質研究への展開」レーザー学会第 318 回研究会「21 世紀のレーザー技術」、広島、2003/12/15
- 95) 山本慎太郎、長谷川明之、久富修、徳永史生
「メダカ G 蛋白質 β サブユニットの特異的抗血清による解析」日本動物学会第 74 回大会、函館、2003/9/17-19
- 96) 長谷川明之、久富修、山本慎太郎、後藤達志、酒見早苗、徳永史生
「イモリ網膜の再生過程における遺伝子発現の解析」日本動物学会第 74 回大会、函館、2003/9/17-19
- 97) 松原 千恵、細川 陽一郎、王 勇、増原 宏、池田 敬子、森 肇
「レーザーマニピュレーションを利用した新規マイクロチップの作製と応用(9)光造形と蛋白質結晶の点着を利用したプロテインチップ」2003 年秋季第 64 回応用物理学会学術連合講演会、2003/08/30
- 98) 松原 千恵、細川 陽一郎、王 勇、増原 宏、池田 敬子、森 肇
「レーザーマニピュレーションを利用した新規マイクロチップの作製と応用(10)光硬化性樹脂を利用した蛋白質結晶の固定」2003 年秋季第 64 回応用物理学会学術連合講演会、2003/08/30
- 99) 増原 宏、朝日 剛、細川 陽一郎、吉川 洋史、高林 淳一
「フェムト秒レーザーアブレーションにおける新現象とバイオ研究への広がり」2003 年秋季第 64 回応用物理学会学術連合講演会、2003/08/31
- 100) 高林 淳一、細川 陽一郎、増原 宏、三浦 重徳、宿南 知佐、開 祐司
「集光フェムト秒レーザービームを用いた単一生細胞の操作(4)-緑色蛍光蛋白による細胞骨格蛋白の可視化-」2003 年秋季第 64 回応用物理学会学術連合講演会、2003/08/31
- 101) 吉川 洋史、細川 陽一郎、増原 宏、池田 敬子、森 肇
「レーザーマニピュレーションを利用した新規マイクロチップの作製と応用(8)-顕微蛍光スペクトルによるタンパク質結晶表面の評価-」第 50 回 応用物理学関係連合講演会、2003/03/30
- 102) 松原 千恵、細川 陽一郎、松村 郷史、増原 宏、池田 敬子、森 肇
「レーザーマニピュレーションを利用した新規マイクロチップの作製と応用(7)-紫外線レーザーによるタンパク質結晶の高分子薄膜およびガラス基板への接着と比較-」第 50 回 応用物理学関係連合講演会、2003/03/29
- 103) 高林 淳一、細川 陽一郎、増原 宏、三浦 重徳、宿南 知佐、開 祐司
「集光フェムト秒レーザービームを用いた単一生細胞の操作 (3) - 蛍光染色による培養動物細胞の生理活性評価-」第 50 回 応用物理学関係連合講演会、2003/03/28
- 104) 安達宏昭、細川 陽一郎、増原宏、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
「集光フェムト秒レーザービームを用いた結晶核生成の制御(2) - ニワトリ卵白リゾチーム -」第 50 回 応用物理学関係連合講演会、2003/03/27
- 105) 常定扶美、安達宏昭、細川陽一郎、増原宏、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
「集光フェムト秒レーザービームを用いた結晶核生成の制御 (1) - 4-dimethylamino-N-methyl-4-stilbazolium tosylate (DAST) -」第 50 回 応用物理学関係連合講演会、2003/03/27

ポスター発表 (国内会議 81 件、国際会議 60 件)

- 1) 宇和田貴之、細川陽一郎、瀧澤典子、岡野和宣、増原宏
「単一ポルフィリンナノ粒子の分光と有機分子検出センサーへの応用 (2)」
第 55 回応用物理学関係連合講演会、日本大学船橋キャンパス、2008/3/27-30
- 2) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男
「光受容蛋白の光誘起初期ダイナミクス：励起波長依存性」日本物理学会第 63 回年次大会、近畿大学、2008/3/22-26
- 3) Y. Hosokawa, Y. Jiang, I. Oh, N. Takizawa, T. Uwada, K. Okano, H. Masuhara
“Femtosecond Laser Manipulation Techniques for Individual Patterning of Biological Micro-object,” Photonics West BiOS 2008, San Jose, California USA. 2008/1/19-24
- 4) 長谷川浩二、後藤達志、北野大輔、琴浦真理、徳永史生、久富修
「FRET を用いた bHLH 因子の DNA 結合解析」日本生物物理学会第 45 回年会、パシフィコ横浜、2007/12/21-23
- 5) 市田秀樹、中村亮介、濱田格雄、菅原洋子、安宅光雄、占部久子、兼松泰男
「ラマン散乱およびテラヘルツ分光によるリゾチームおよび BPTI 結晶の低振動モードの観測」日本生物物理学会第 45 回年会、パシフィコ横浜、2007/12/21-23
- 6) 濱田格雄、中村亮介、井尻宏志、中井大介、赤木祐一郎、日比華子、広島利江、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男、森 肇
「昆虫ウイルス由来タンパク質ポリヘドリンを用いた外来タンパク質固定化技術の開発」日本生物物理学会第 45 回年会、パシフィコ横浜、2007/12/21-23
- 7) 久富修、長谷川浩二、後藤達志、琴浦真理、北野大輔、徳永史生、林文夫
「bHLH 転写因子の実時間解析」日本生物物理学会第 45 回年会、パシフィコ横浜、2007/12/21-23
- 8) 水野操、濱田格雄、徳永史生、水谷泰久
「イエロープロテインにおける光誘起構造変化の高速伝播：ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光による観測」日本生物物理学会第 45 回年会、パシフィコ横浜、2007/12/21-23
- 9) 瀧澤典子、岡野和宣、宇和田貴之、細川陽一郎、増原宏
「オールウェットレーザーナノプロセスによる細胞および生体材料の集積化 (2) - フェムト秒レーザープロセスによりパターンニングした PC12 細胞の分化誘導過程 -」第 30 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2007/12/11-15
- 10) 岡野和宣、瀧澤典子、宇和田貴之、細川陽一郎、増原宏
「オールウェットレーザーナノプロセスによる細胞及び生体材料の集積化 (4) - フェムト秒レーザーによる非熱的爆触現象を利用した液中極微量試薬添加 -」第 30 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2007/12/11-15
- 11) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, H. Masuhara, K. Fujiyama, T. Seki,
“Nondestructive Separation of Fission Yeast Cells by Femtosecond Laser-induced Impulsive Force,” The 9th annual Conference on Laser Ablation, Tenerife, Spain. 2007/9/24-28
- 12) Atsushi Yamaguchi, Yoichiro Hosokawa, Guillaume Louit, Tsuyoshi Asahi, Hiroshi Masuhara, Chisa Shukunami, Yuji Hiraki,
“Nanoparticles Injection into Single Animal Cells by Femtosecond Laser-induced Impulsive Force,” The 9th annual Conference on Laser Ablation, Tenerife, Spain. 2007/9/24-28
- 13) 吉川洋史、村井良多、空洋介、佐崎元、細川陽一郎、増原宏、北谷友也、牧祥、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上 豪、森勇介、佐々木考友
「蛍光ラベルタンパク質を用いてのフェムト秒レーザー誘起核発生メカニズムの解析」第 68 回応用物理学学会学術講演会、北海道工業大学、2007/9/4-8
- 14) 宇和田貴之、細川陽一郎、瀧澤典子、岡野和宣、増原宏
「単一ポルフィリンナノ粒子の分光と有機分子検出センサーへの応用」第 68 回応用物理学学会学術講演会、北海道工業大学、2007/9/4-8
- 15) Y. Hosokawa, N. Takizawa, T. Uwada, K. Okano, H. Masuhara,

- “Cell Viability after Femtosecond Laser Ablation of Tissue,” Keio International Symposium on Photonics and Molecular Therapy, 6-7 August, 2007, Tokyo, Japan.
- 16) Y. Hosokawa, S. Iguchi, Y. Hiraki, C. Shukunami, H. Masuhara,
“Femtosecond Laser Micro-injection of EGFP Plasmid into Single Animal Cell,” Keio International Symposium on Photonics and Molecular Therapy, 6-7 August, 2007, Tokyo, Japan.
 - 17) 中村亮介, 濱田格雄, 市田秀樹, 徳永史生, 兼松泰男
「チャープパルスを用いたパンプ・ダンプ分光」, 日本物理学会 第 62 回年次大会, 北海道, 2007/9/21-24
 - 18) N. Hamada, R. Nakamura, H. Ijiri, H. Ichida, Y. Kanematsu, F. Tokunaga and H. Mori
“Immobilization of diverse foreign proteins in viral polyhedra,” 6th International Conference of Biological Physics, Montevideo, Uruguay, 2007/8/27-31
 - 19) K. Okamoto, R. Nakamura, H. Ichida, N. Hamada, T. Okamura, Y. Kanematsu and H. Yamamoto
“Electronic State Regulation of the Chromophore by Cys69 Residue in PYP,” 6th International Conference of Biological Physics, Montevideo, Uruguay, 2007/8/27-31
 - 20) Y. Kanematsu, R. Nakamura, H. Ichida, N. Hamada, Y. Sugawara, M. Ataka and H. Urabe
“Low Frequency Modes of Proteins Observed by Raman Scattering and Terahertz Spectroscopy,” 6th International Conference of Biological Physics, Montevideo, Uruguay, 2007/8/27-31
 - 21) T. Goto, O. Hisatomi, M. Kotoura and F. Tokunaga
“Hn1 Gene Induced at an Early Period in Newt Retina Regeneration”, 第40回日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会 合同大会, 福岡国際会議場, 2007/5/28-30
 - 22) 細川 陽一郎, 吉川洋史, 安達 宏昭, 森 勇介, 佐々木 孝友, 増原 宏
「フェムト秒レーザーによる蛋白質結晶の非変性加工」, 第 68 回レーザー加工学会, 大阪大学, 2007/5/21-22
 - 23) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
“Initial Dynamics of Photoactive Yellow Protein Revealed by Pump-dump Fluorescence Spectroscopy,” International Symposium on Molecular Science of Ultrafast Electronic Dynamics, Sendai, 2007/5/18-19
 - 24) 市田秀樹, 中村亮介, 菅原洋子, 占部久子, 兼松泰男
“The First Observation of THz Time-domain Reflection Spectra of Lysozyme Crystals,” 日本生物物理学会第 44 回年会 (第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議) 沖縄コンベンションセンター, 2006/11/13-16
 - 25) 位田卓, 市田秀樹, 中村亮介, 濱田格雄, 兼松泰男, 徳永史生
“Enhancement of Photoreaction in Photoactive Yellow Protein by Infrared Laser Pulse Irradiation,” 日本生物物理学会第 44 回年会 (第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議) 沖縄コンベンションセンター, 2006/11/13-16
 - 26) 兼松泰男, 中村亮介, 濱田格雄, 市田秀樹, 徳永史生
“Pump-dump Fluorescence Spectroscopy for Photoactive Yellow Protein,” 日本生物物理学会第 44 回年会 (第 5 回東アジア生物物理学シンポジウムとの合同会議) 沖縄コンベンションセンター, 2006/11/13-16
 - 27) 井口世利也, 安国良平, 細川陽一郎, 開祐司, 増原宏
「集光フェムト秒レーザーを用いた単一動物細胞内への蛍光性デキストランの導入」分子構造総合討論会 2006、静岡県コンベンションアーツセンター, 2006/9/20-23
 - 28) 安国良平, J.-A. SPITZ, R. Meallet-Renault, 細川陽一郎, 朝日剛, 宿南知佐, 開祐司, 増原宏
「細胞内アクチンフィラメントのフェムト秒レーザー切断と再生ダイナミクス」, 分子構造総合討論会 2006、静岡県コンベンションアーツセンター, 2006/9/20-23
 - 29) 山口敦, 細川陽一郎, 朝日剛, 開祐司, 増原宏
「集光フェムト秒レーザー誘起衝撃波による単一生細胞内への微粒子導入」, 分子構造

- 総合討論会 2006、静岡県コンベンションアーツセンター, 2006/9/20-23
- 30) 細川陽一郎、中村和彦、空洋介、増原宏
「集光フェムト秒レーザーによる有機分子・蛋白質の結晶化」, 2006 年光化学討論会、東北大学、2006/9/10-12
 - 31) 根岸貴幸、多田拓司、山口敦、細川陽一郎、朝日剛、宿南知佐、開祐司、増原宏
「集光フェムト秒レーザー照射による単一細胞の局所破壊と細胞内構造変化の直接観察」, 2006 年光化学討論会、東北大学、2006/9/10-12
 - 32) K. Kashii, Y. Hosokawa, H. Kitano, H. Adachi, Y. Mori, H. Yoshikawa, T. Sasaki and H. Masuhara
“Femtosecond Laser-induced Cleaving of Protein Crystal in Water Solution,” 5th International Conference on Photo-Excited Processes and Applications (5th ICPEPA), Virginia, USA , 2006/9/3-7
 - 33) K. Nakamura, Y. Sora, Y. Hosokawa and H. Masuhara
“Femtosecond Laser-induced Crystallization: Mechanisms in Gel Media,” 5th International Conference on Photo-Excited Processes and Applications (5th ICPEPA), Virginia, USA, 2006/9/3-7
 - 34) R. Yasukuni, J.-A. Spitz, R. Meallet-Renault, Y. Hosokawa, T. Asahi, C. Shukunami, Y. Hiraki and H. Masuhara
“Realignment Process of Actin Stress Fiber Dissected by Focused Femtosecond Laser,” 5th International Conference on Photo-Excited Processes and Applications (5th ICPEPA), Virginia, USA, 2007/9/3-7
 - 35) 空洋介、中村和彦、細川 陽一郎、増原宏
“高粘度タンパク質溶液におけるフェムト秒レーザー誘起結晶化”, 第 67 回応用物理学会学術講演会、立命館大学、京都、2006/8/29-9/1
 - 36) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
“Ultrafast Dynamics of Photoactive Yellow Protein Probed Via the Photo-excitation and Emission Processes,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/ 6-8
 - 37) N. Hamada, R. Nakamura, H. Ijiri, Y. Takeda, F. Tokunaga, Y. Kanematsu and H. Mori
“Immobilization of diverse foreign proteins in viral polyhedra,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/ 6-8
 - 38) Y. Kanematsu, R. Nakamura, N. Hamada and H. Ichida
“Matrix Spectroscopy for Non-Invasive Evaluation of Cell Differentiation,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
 - 39) S. Iguchi, R. Yasukuni, Y. Hosokawa, Y. Hiraki and H. Masuhara
“Three-dimensional Distribution of Sugar Chain Injected into Single Animal Cells by Focused Femtosecond Laser,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
 - 40) A. Yamaguchi, Y. Hosokawa, T. Asahi, Y. Hiraki and H. Masuhara
“Nanosphere Injection into Single Living NIH 3T3 Cells by Focused Femtosecond Laser-Induced Shockwave,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
 - 41) R. Yasukuni, J.-A. Spitz, R. Meallet-Renault, Y. Hosokawa, T. Asahi, C. Shukunami, Y. Hiraki and H. Masuhara
“Contraction and Regeneration Dynamics of Actin Filament in a Fibroblast Cell by Focused Femtosecond Laser,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
 - 42) K. Nakamura, Y. Hosokawa and H. Masuhara
“Femtosecond Laser-induced Crystallization of Anthracene,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6-8
 - 43) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa and H. Masuhara
“Nucleation and Crystal Growth of Organic Molecules Triggered by Focused Femtosecond Laser Irradiation,” The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka 2006/6/6-8

- 44) H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, H. Matsumura, T. Inoue, K. Takano, S. Murakami, Y. Hosokawa, H. Masuhara, Y. Mori and T. Sasaki
 "Protein Crystallization at Low Supersaturation by Focused Femtosecond Laser Irradiation," The 3rd International Nanophotonics Symposium Handai (INPS3), Osaka, 2006/6/6-8
- 45) N. Hamada, K. Matsumoto, R. Nakamura, H. Ichida, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
 "Spectroscopic Study of Interaction between Molecular Probes and Photoactive Yellow Protein," 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, 2006/6/4-8
- 46) R. Nakamura, H. Ichida, S. Ida, N. Hamada, F. Tokunaga and Y. Kanematsu
 "Ultrafast Dynamics of Photoactive Yellow Protein Probed Via the Photo-excitation and Emission Processes," 12th International Conference on Retinal Proteins, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, 2006/6/4-8
- 47) R. Yasukuni, Y. Hosokawa, T. Asahi, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Dissection of Bipological Filaments by Femtosecond Laser Irradiation," The 4th International Congress on Laser Advanced Materials Processing (LAMP2006), Kyoto, 2006/5/16-19
- 48) S. Iguchi, R. Yasukuni, Y. Hosokawa, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Biomaterial Injection to Single Animal Cell by Focused Femtosecond Laser," The 4th International Congress on Laser Advanced Materials Processing (LAMP2006), Kyoto, 2006/5/16-19
- 49) R. Yasukuni, Y. Hosokawa, T. Asahi, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Femtosecond Laser-induced Ablation and Contraction Dynamics of Actin Filaments in Mouse NIH3T3 Fibroblast Cells," XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry, Kyoto, 2006/4/2-7
- 50) Y. Hosokawa, S. Iguchi, R. Yasukuni, Y. Hiraki and H. Masuhara
 "Laser Micro-injection of Sugar Chain into Single Animal Cell: Application of Femtosecond Laser Ablation in Solution," XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry, Kyoto, 2006/4/2-7
- 51) T. Negishi, G. Tanaka, Y. Hosokawa, T. Asahi, H. Masuhara, T. Mizugami and K. Tsujimoto
 "Fluorescence Microspectroscopic Measurement on Intracellular pH in Single Living Halobacteria," XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry, Kyoto, 2006/4/2-7
- 52) K. Nakamura, Y. Hosokawa and H. Masuhara
 "Mechanism and Dynamics of Anthracene Crystallization by Focused Femtosecond Laser Irradiation," XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry, Kyoto, Japan, 2006/4/2-7
- 53) 根岸貴幸、田中豪、細川陽一郎、朝日剛、増原宏、水上卓、辻本和雄
 「光照射による高度好塩菌内 pH 変化の単一細胞計測」日本化学会第 86 春季年会 (2006)、日本大学船橋キャンパス、2006/3/27-30
- 54) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、徳永史生、兼松泰男
 「蛋白質の光誘起構造変調 I: Pump-Dump-蛍光法」日本物理学会 2005 年秋季大会、2005/09/21
- 55) 市田秀樹、中村亮介、濱田格雄、徳永史生、兼松泰男
 「蛋白質の光誘起構造変調 II」日本物理学会 2005 年秋季大会、2005/09/21
- 56) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa and H. Masuhara
 "Crystallization in Supersaturated Solution of Organic Molecule, Urea, Enforced by Focused Femtosecond Laser Irradiation," The 8th International Conference on Laser Ablation, Banff, Canada, 2005/9/11-16
- 57) Y. Hosokawa, T. Tada, T. Asahi and H. Masuhara
 "Local Deformation and Recovering Processes of Single Animal Cell by Focused Femtosecond Laser Beam," The 8th International Conference on Laser Ablation, Banff, Canada, 2005/9/11-16
- 58) A. Okafuji, N. Hamada, K. Soda, K. Matsumoto, H. Ichida, R. Nakamura, F. Tokunaga, Y. Kanematsu
 "First Observation of Fluorescence from Photo-induced Intermediate State in Photoactive Yellow Protein," 15th International Conference on Dynamical Processes in Excited States of Solids (DPC'05), 2005/08/02
- 59) K. Matsumoto, N. Hamada, K. Soda, H. Ichida, R. Nakamura, Y. Kanematsu, F. Tokunaga
 "Two Types Spices of Signaling State in the Photocycle of Photoactive Yellow Protein," 15th International Conference on Dynamical Processes in Excited States of Solids (DPC'05),

- 2005/08/02
- 60) 村井良多、安達宏昭、高野和文、村上聡、松村浩由、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「蛋白質結晶の育成における最適温度条件の探索」第5回日本タンパク質科学会年会、
2005/06/30
- 61) 安達宏昭、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「新規技術展開によるタンパク質結晶育成の完全制御」、第9回黎明研究報告会、茨城、
2005/6/28-29
- 62) 安達宏昭、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「異分野連携による革新的な蛋白質結晶育成技術の開発」、関西バイオの未来を考える
会セミナー、大阪、2005/6/20
- 63) 永田崇、小柳光正、徳永史生
「ロドプシンの仲間・G蛋白「質共役型レセプターの機能と構造節足動物の系統における
オプシンの分子進化」、分子研研究会、岡崎、2005/6/15
- 64) 泉真一朗、西崎有利子、宿南知佐、古谷・清木誠、桃井章裕、北川章、近藤寿人、
開祐司
「ゼブラフィッシュにおける chondromodulin2 の発現解析」日本発生生物学会第38回大
会、2005/06/01
- 65) 山本慎太郎、久富修、徳永史生
「メダカ桿体・錐体における Gβγ・フォスデューシン細胞内分布の比較」、日本動物学
会近畿支部研究発表会、大阪、2005/5/28
- 66) 安達宏昭、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「有機およびタンパク質結晶の育成とその応用」、大学・国公立研究所による研究成果
発表フォーラム、東京、2005/5/18-20
- 67) 安達宏昭、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「新規タンパク質結晶化技術の事業化」、第5回バイオビジネスコンペ JAPAN 本選会、
大阪、2005/4/18
- 68) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、兼松泰男、徳永史生
「細胞外マトリックス評価へ向けた時間分解励起蛍光分光法の開発」、日本物理学会第
60回年次大会、東京、2005/3/24-27
- 69) 松本健吾、曾田幸司、濱田格雄、市田秀樹、中村亮介、兼松泰男、徳永史生
「蛋白質の相互作用評価 I」日本物理学会第60回年次大会、東京、2005/3/24-27
- 70) 安達宏昭
「分子配列による蛋白モジュールの開発と展開・集光フェムト秒レーザービームを用い
た卵白リゾチームの結晶核生成・高品質有機」、2004年度先端科学イノベーションセン
ターVBL 部門公開成果発表会、大阪、2005/3/3
- 71) Y. Hosokawa, Y. Matsumoto, T. Yamato, S. Sato, I. Oh, H. Masuhara
“Screening of Single Cells Using Commercial Laser Manipulation System”, International
Symposium "Cell Processing Engineering," - For The Industrialization of Regenerative
Medicine -, 2005/02/04
- 72) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, H. Masuhara
“Spatially Controlled Crystallization of Urea Induced by Femtosecond Laser Ablation,” Fourth
Asian Photochemistry Conference (APC-2005), 2005/01/05
- 73) 濱田格雄、中村亮介、市田秀樹、曾田幸司、松本健吾、兼松泰男、徳永史生
「水素結合ネットワーク改変による光受容蛋白質の蛍光スペクトル解析」日本生物物理
学会 42 回年会、京都、2004/12/12-13
- 74) 松本健吾、濱田格雄、市田秀樹、中村亮介、兼松泰男、徳永史生
「疎水プローブによる P Y P M 中間体における構造変化の検出」、日本生物物理学会 42
回年会、京都、2004/12/12-13
- 75) 曾田幸司、濱田格雄、市田秀樹、中村亮介、松本健吾、兼松泰男、徳永史生
「過渡吸収測定によるアナログ P Y P の光反応戻り過程の解析」、日本生物物理学会 42

- 回年会、京都、2004/12/12-13
- 76) 馬渡亮、佐伯和彦、久富修、徳永史生
「紅色非硫黄細菌の走光性光受容蛋白についての研究」, 日本生物物理学会 42 回年会、京都、2004/12/12-13
- 77) 海野雅司、El-M. Samir、熊内雅人、濱田格雄、徳永史生、山内清語
「M中間体の形成に伴う Photoactive Yellow Protein のタンパク部分の構造変化：紫外共鳴ラマン分光法による解析」, 日本生物物理学会 42 回年会、京都、2004/12/12-13
- 78) 古山 明子、宿南 知佐、森 肇、開 祐司
「増殖因子の固相化：多角体固定化 FGF2 による NIH 3 T3 細胞の増殖促進活性」第 27 回日本分子生物学会年会、2004/12/08
- 79) H. Adachi, S. Murakami, A.Niino, H. Matsumura, K. Takano, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
“Protein Crystallization Using Laser Irradiation,” SANKEN International Symposium on Scientific and Industrial Nanotechnology 2004 (SISSIN-2004), Osaka, 2004/12/6
- 80) 古山明子、西崎有利子、野津裕之、宿南知佐、開祐司、森肇
「増殖因子の固相化：多角体固定化 FGF2 による NIH 3 T3 細胞の増殖促進活性」平成 16 年度日本蚕糸学会関西支部・日本蚕糸学会九州支部合同研究発表会、2004/11/25
- 81) 安達宏昭
「温度スクリーニングによるタンパク質の結晶化」, 日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 82) 安達宏昭、村上聡、新納愛、高野和文、松村浩由、井上豪、森勇介、山口明人、佐々木孝友
「レーザーを用いた膜タンパク質結晶の育成」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 83) 北野博史、安達宏昭、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、土肥正明、佐々木孝友
「193nm レーザーを用いたタンパク質結晶の X 線回折装置内におけるその場加工」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 84) 新納愛、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、木下誉富、割鞘雅一、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「レーザー照射と溶液攪拌によるタンパク質結晶の成長制御」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 85) 新納愛、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「蒸気拡散速度制御によるタンパク質結晶の育成」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 86) 竹内謙悟、北野博史、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、土肥正明、佐々木孝友、金谷茂則
「レーザー加工後の種結晶を用いたタンパク質結晶の育成」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 87) 佐藤篤志、村上敦俊、北野博史、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、土肥正明、佐々木孝友
「紫外レーザー光を用いたタンパク質結晶の加工および操作法の開発」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 88) 矢追真理、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木孝友
「タンパク質結晶育成における溶液攪拌の効果」日本結晶学会平成 16 年度年会、大阪、2004/11/16
- 89) 松原千恵、細川陽一郎、王勇、池田敬子、森肇、増原宏
「集光 UV パルスレーザーと光反応性樹脂を利用したタンパク質結晶のパターニング」2004 年光化学討論会、2004/11/01
- 90) 安達宏昭、新納愛、北野博史、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、森勇介、

- 佐々木孝友
「新しいタンパク質結晶育成技術の開発」, 大阪大学イノベーションセミナー2004、大阪、2004/10/18
- 91) 濱田格雄、市田秀樹、中村亮介、兼松泰男、徳永史生
「アミノ酸残基を用いた蛋白質蛍光プローブ法の開発」、日本物理学会 2004 年秋季大会、青森、2004/9/12-14
 - 92) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、曾田幸司、松本健吾、兼松泰男、徳永史生
「多重分光情報の一括取得・処理システムの構築：(時間分解) 励起一蛍光マトリックス」, 日本物理学会 2004 年秋季大会、青森、2004/9/12-14
 - 93) H. Adachi, A. Niino, H. Matsumura, K. Takano, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori, and T. Sasaki
“Crystallization of Adenosine Deaminase Using Solution Stirring Technique,” The 8th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation (BSR2004) イーグレ姫路、兵庫、2004/9/7
 - 94) Y. Nishizaki, C. Shukunami, R. Ito and Y. Hiraki
“Expression of Medaka Chondromodulin-1 in the Avascular Region of the Otic Vesicle During Inner Ear Development,” International Society of Differentiation, 3th International Conference, Honolulu, Hawaii, 2004/9/5-9
 - 95) 中村 和彦, 細川 陽一郎, 新納 愛, 安達 宏昭, 森 勇介, 佐々木 孝友, 増原 宏
「集光フェムト秒レーザービームを用いた結晶核生成メカニズムの研究」2004 年秋季第 65 回応用物理学会、2004/09/01
 - 96) R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida, Y. Kanematsu and F. Tokunaga
“Time-gated Matrix Spectroscopy Applicable to Photosensitive Biological Materials,” The 5th International Conference on Biological Physics, Gothenburg, Sweden, 2004/8/23-27
 - 97) N. Hamada, H. Ichida, R. Nakamura, K. Matsumoto, Y. Kanematsu and F. Tokunaga
“Structural Inhomogeneity of Modified Proteins Examined Through Fluorescence Spectroscopy,” The 5th International Conference on Biological Physics, Gothenburg, Sweden, 2004/8/23-27
 - 98) Y. Kanematsu, R. Nakamura, N. Hamada, H. Ichida and F. Tokunaga
“Ultrafast Coherent Vibrational Motion of Photoactive Yellow Protein Molecules,” The 5th International Conference on Biological Physics, Gothenburg, Sweden, 2004/8/23-27
 - 99) 安達宏昭、森勇介、松村浩由、村上聡、高野和文、井上豪、吉村政志、佐々木孝友
「レーザー核発生、及び溶液攪拌を用いた高品質タンパク質結晶成長」第 34 回結晶成長国内会議(NCCG-34)、2004/08/25
 - 100) A. Niino, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
“Control of Protein Crystal Nucleation and Growth with Stirring Solution, Effect of Stirring Solution on Protein Crystallization,” The 14th International Conference on Crystal Growth (ICCG-14) 、Grenoble, FRANCE, 2004/8/9-13
 - 101) Y. Hosokawa, Y. Ryohei, T. Omoto, H. Masuhara
“Nondestructive processing of single biological cells by femtosecond laser induced Shockwave,” Gordon Research Conference:Laser Interactions with Materials, 2004/08/01
 - 102) H. Masuhara, N. Kurokawa, and H. Yoshikawa
“Size-dependent Spectroscopic and Thermodynamic Properties of Polymer Nanoparticles,” the XX IUPAC Symposium on Photochemistry, 2004/07/17
 - 103) K. Matsumoto, N. Hamada, R. Nakamura, H. Ichida, Y. Kanematsu, F. Tokunaga
“Evaluation of the chromophore state of Photoactive Yellow Protein(PYP) by fluorescence spectroscopy,” 第 14 回国際光生物学会議, 2004/06/10
 - 104) H. Adachi, K. Takano, A. Niino, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
“Solution Stirring Enables to Generate Nucleation and Improve Quality of Adenosine Deaminase Crystal,” ICCBM10, Beijing, China, 2004/6/5-8

- 105) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, S. Miura, Y. Ryohei, C. Shukunami, Y. Hiraki, H. Masuhara
“Nondestructive processing of cultured animal cells by femtosecond laser induced shockwave,”
The 5th International Symposium on Laser Precision Microfabrication (LPM 2004), 2004/05/11
- 106) C. Matsubara, Y. Hosokawa, Y. Wang, H. Y. Yoshikawa, K. Ikeda, H. Mori, H. Masuhara
“Fabrication of protein microarrays composed of protein crystals by laser micro processing and
its application to reusable protein chips,” The 5th International Symposium on Laser Precision
Microfabrication (LPM 2004), 2004/05/11
- 107) M. Yaoi, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, T. Inoue, Y. Mori and T Sasaki
“Effective Protein Crystal Growth by Solution Stirring, Protein Crystallization Using Novel
Stirring Technique,” 第 1 回環太平洋蛋白質科学国際会議 (PRICPS2004)、横浜、
2004/04/14-18
- 108) 吉富寛, 市田秀樹, 濱田格雄, 熊内雅人, 中村亮介, 兼松泰男, 徳永史生
「光受容蛋白質を用いた THz 分光測定を試み」, 日本物理学会第 59 回年次大会, 福岡、
2004/3/27-30
- 109) 濱田格雄 中村亮介 市田秀樹 曾田幸司 松本健吾 吉富寛 山田寛士 兼松泰男
徳永史生
「水素結合ネットワーク改変による光受容蛋白質の蛍光スペクトル解析」, 日本物理学
会第 59 回年次大会, 福岡、2004/3/27-30
- 110) 中村亮介, 濱田格雄, 市田秀樹, 曾田幸司, 松本健吾, 兼松泰男, 徳永史生
「光受容蛋白質の超高速ダイナミクス」, 日本物理学会第 59 回年次大会, 福岡、
2004/3/27-30
- 111) 山田寛士, 熊内雅人, 濱田格雄, X.-G. Zheng, Il H. Park, 中村亮介, 市田秀樹, 兼松
泰男, 吉原和雄, 徳永史生
「プローブ導入による光受容蛋白質の蛍光スペクトル解析」, 日本物理学会第 59 回年次
大会, 福岡、2004/3/27-30
- 112) 市田秀樹 濱田格雄, 中村亮介, 兼松泰男, 徳永史生
「光受容蛋白質 PYP の結晶状態における分光学的特性」, 日本物理学会第 59 回年次大会,
福岡、2004/3/27-30
- 113) 松本健吾, 濱田格雄, 中村亮介, 市田秀樹, 兼松泰男, 徳永史生
「新規蛋白質プローブ法の開発」, 日本物理学会第 59 回年次大会, 福岡、2004/3/27-30
- 114) N. Hamada, R. Nakamura, H. Ichida, H. Yoshitomi, H. Yamada, K. Soda, K. Matsumoto,
Y. Kanematsu and F. Tokunaga
“Properties of Photocycle in the Hybrid Photoactive Yellow Protein (PYP) Reconstituted with
Analogue Chromophores and Mutations,” International Symposium on the Creation of Novel
Nanomaterials, Osaka, 2004/1/20
- 115) Y. Hosokawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, and H. Masuhara
“Femtosecond laser induced nucleus generation of organic crystal,” International Symposium on
the Creation of Novel Nanomaterials, 2004/01/20
- 116) 吉川洋史・細川陽一郎・池田敬子・森肇・増原宏
「緑色蛍光タンパク質が包埋された単一多角体タンパク質結晶の蛍光解析」2003 年光化
学討論会、2003/11/23
- 117) 細川陽一郎・高林淳一・宿南知佐・開祐司・増原宏
「フェムト秒レーザー衝撃波による細胞内構造変化の蛍光イメージング」2003 年光化学
討論会、2003/11/23
- 118) Y. Hosokawa, H. Takabayashi, and H. Masuhara, S. Miura, C. Shukunami, Y. Hiraki
“Nondestructive Isolation of Single Cultured Animal Cells by Femtosecond Laser-Induced
Shockwave,” The 7th International Conference on Laser Ablation, 2003/10/06
- 119) 海野雅司, 熊内雅人, 濱田格雄, 徳永史生, 山内清語
「イエロープロテイン L 中間体には 2 つのコンフォメーションが存在するー共鳴ラマ
ン分光による解析」, 第 41 回日本生物物理学会、新潟、2003/9/23-25
- 120) 濱田格雄、中村亮介、市田秀樹、兼松泰男、徳永史生

- 「バクテリオロドプシンの光反応サイクルと配向性の光学的特性 I」, 日本物理学会秋季大会, 岡山、2003/9/20-23
- 121) 中村亮介、濱田格雄、市田秀樹、兼松泰男、徳永史生
「バクテリオロドプシンの光反応サイクルと配向性の光学的特性 II」, 日本物理学会秋季大会, 岡山、2003/9/20-23
- 122) 海野雅司、熊内雅人、濱田格雄、徳永史生、山内清語
「イエロープロテインL中間体には2つのコンフォメーションが存在する—共鳴ラマン分光による解析」, 第41回日本生物物理学会、新潟、2003/9/23-25
- 123) 酒見早苗、久富修、榊原俊介、徳永史生
「イモリの網膜再生過程での Otx2 の発現」, 日本動物学会第74回大会、函館、2003/9/17-19
- 124) 小林宏行、後藤達志、酒見早苗、久富修、徳永史生
「再生過程の網膜前駆細胞で発現する遺伝子群」, 日本動物学会第74回大会、函館、2003/9/17-19
- 125) 植野由佳、関隆晴、徳永史生
「メダカ発色団の組成比の変化：温度とトリヨードチロシンの影響」, 日本動物学会第74回大会、函館、2003/9/17-19
- 126) H. Yoshikawa, Y. Hosokawa, H. Masuhara, K. Ikeda, H. Mori
“Fluorescence microspectroscopy of single protein crystals including enhanced green fluorescence protein,” The International Nanophotonics Symposium Handai, 2003/07/25
- 127) J. Takabayashi, Y. Hosokawa, and H. Masuhara, S. Miura, C. Shukunami, Y. Hiraki
“Single cell isolation and transfer using femtosecond laser induced shockwave and its visualization,” The International Nanophotonics Symposium Handai, 2003/07/25
- 128) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, and H. Masuhara
“Propagation dynamics of femtosecond laser induced shockwave in culture medium and its biological application,” The International Nanophotonics Symposium Handai, 2003/07/25
- 129) C. Matsubara, Y. Hosokawa, H. Masuhara, K. Ikeda, H. Mori
“Fluorescence imaging and analysis of single protein crystals patterned by laser processing,” The International Nanophotonics Symposium Handai, 2003/07/25
- 130) Y. Hosokawa, J. Takabayashi, and H. Masuhara
“Bio-application of femtosecond laser ablation: Generation and propagation of laser induced shockwave in culture medium,” The XXIst International Conference on Photochemistry (ICP21), 2003/07/25
- 131) C. Matsubara, Y. Hosokawa, H. Masuhara, K. Ikeda, H. Mori
“Patterning and fixation of single proteinaceous crystals by laser microprocessing,” The XXIst International Conference on Photochemistry (ICP21), 2003/07/25
- 132) H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, H. Masuhara, K. Ikeda, H. Mori
“Fluorescence microspectroscopy of Enhanced Green Fluorescence Protein (EGFP)-occluded protein crystal,” The XXIst International Conference on Photochemistry (ICP21), 2003/07/25
- 133) J. Takabayashi, Y. Hosokawa, and H. Masuhara, S. Miura, C. Syukunami, Y. Hiraki
“Bio-application of femtosecond laser ablation: Single manipulation of animal living cells,” The XXIst International Conference on Photochemistry (ICP21), 2003/07/25
- 134) N. Hamada, R. Nakamura, K. Soda, H. Ichida, Y. Kanematsu and F. Tokunaga
“Stationary and Time-resolved Luminescence Studies on the Initial and M-intermediate States of Photoactive Yellow Protein,” 第21回国際光化学会議 (ICPXXI), Nara, 2003/7/26-31
- 135) 山田寛士、熊内雅人、濱田格雄、X.-G. Zheng, II H. Park、益田勝吉、吉原和雄、徳永史生
「Photoactive Yellow Protein の color regulation におけるアナログ発色団による静電的摂動の影響」, 第三回日本蛋白科学会年会, 札幌、2003/6/24
- 136) 曾田幸司、濱田格雄、中村亮介、市田秀樹、兼松泰男、徳永史生
「蛍光スペクトル測定による Photoactive Yellow Protein の構造変化追跡」, 第三回日本蛋白科学会年会, 札幌、2003/6/24

- 137) 吉富寛、熊内雅人、濱田格雄、徳永史生
「メチオニン1残基からみた Photoactive Yellow Protein(PYP)の安定性」, 第50回日本生化学会近畿支部例会、大阪、2003/5/31
- 138) 山田寛士、熊内雅人、濱田格雄、X.-G. Zheng、吉原和雄、徳永史生
「Photoactive Yellow Protein における発色団の分光学的性質に対する静電的摂動の及ぼす影響」, 第50回日本生化学会近畿支部例会、大阪、2003/5/31
- 139) 細川 陽一郎、増原 宏、松本 由多加、佐藤 節哉
「レーザーマイクロマニピュレーションによる細胞分離システムの開発 (5)」第7回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、2003/04/11
- 140) 松原千恵、松村郷史、細川陽一郎、増原宏、池田敬子、森肇
「レーザーマイクロプロセスによる単一タンパク質結晶のパターンニング・固定化」第7回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会、2003/04/11
- 141) 中村亮介、兼松泰男、濱田格雄、熊内雅人、徳永史生
「蛋白質における光誘起ダイナミクス：時間分解蛍光法 I」, 物理学会第58回年次大会、宮城、2003/3/28-31

(4)特許出願

①国内出願 (8 件)

- 1) 発明の名称：生体刺激装置、遺伝子制御装置および筋肉関連疾患治療装置
発明者：細川陽一郎、増原宏、岡野和宣、高岡裕、大田美香、伊藤影彦
特許出願人：独立行政法人科学技術振興機構、神戸大学、濱野生命科学研究財団
出願日：2007/9/19
出願番号：特願 2007-242851
- 2) 発明の名称：微小粒子の配列方法
発明者：細川 陽一郎、増原 宏、開 祐司、宿南 知佐
出願人：大阪大学、京都大学
出願日：2005/3/25
出願番号：特願 2005-089697
- 3) 発明の名称：結晶核の製造方法および結晶化条件スクリーニング方法
発明者：佐々木孝友、森勇介、吉村政志、安達宏昭、増原宏、細川陽一郎、高野和文
特許出願人：大阪産業振興機構
出願日：2005/2/3
出願番号：特願 2005-501234
- 4) 発明の名称：細胞外物質の細胞内への導入方法
発明者：細川 陽一郎、増原 宏、開 祐司、宿南 知佐
特許出願人：科学技術振興機構
出願日：2004/11/16
出願番号：特願 2004-332187
- 5) 発明の名称：高分子結晶の製造方法及び高分子結晶育成装置
発明者：北野博史、安達宏昭
特許出願人：ニコン、安達宏昭、佐々木孝友、森勇介、高野和文、井上豪、松村浩由、村上聡
出願日：2004/9/8
出願番号：特願 2004-261541

- 6) 発明の名称：結晶の特性評価用試料の製作方法及び特性評価方法
 発明者：北野博史、安達宏昭
 特許出願人：ニコン、安達宏昭、佐々木孝友、森勇介、高野和文、井上豪、松村浩由
 出願日：2004/5/31
 出願番号：特願 2004-162405
- 7) 発明の名称：有機結晶の加工方法、有機結晶の加工装置、及び有機結晶の観察装置
 発明者：北野博史、安達宏昭
 特許出願人：ニコン、安達宏昭、佐々木孝友、森勇介、高野和文、井上豪、松村浩由
 出願日：2004/5/27
 出願番号：特願 2004-158133
- 8) 発明の名称：高分子結晶の加工方法、高分子結晶の加工装置、及び高分子結晶の観察装置
 発明者：北野博史、安達宏昭
 特許出願人：ニコン、安達宏昭、佐々木孝友、森勇介、高野和文、井上豪、松村浩由
 出願日：2004/5/7
 出願番号：特願 2004-137991

②海外出願 (6 件)

- 1) 発明の名称：“Viral Polyhedra Complexes and Methods of Use”
 発明者：Peter Metcalf, Fasseli Joseph Coulibaly, Hajime Mori, Norio Hamada, Keiko Ikeda and Yui Lam Elaine Chiu
 出願人：Auckland UniServices Limited, Kyoto Institute of Technology, Protein Crystal Corporation
 出願日：2007/02/28
 出願番号：NZ 553519
- 2) 発明の名称：“Modification of Viral Polyhedra”
 発明者：Peter Metcalf, Fasseli Joseph Coulibaly, Hajime Mori, Norio Hamada, Keiko Ikeda and Yui Lam Elaine Chiu
 出願人：Auckland UniServices Limited, Kyoto Institute of Technology, Protein Crystal Corporation
 出願日：2007/02/28
 出願番号：NZ 553518
- 3) 発明の名称：微小粒子の配置方法
 発明者：細川陽一郎、増原宏、開祐司、宿 知佐
 出願人：大阪大学、京都大学
 出願日：2006/3/24
 出願番号：PCT/JP2006/305993
- 4) 発明の名称：温度調節装置およびそれを用いたタンパク質結晶化装置
 発明者：佐々木孝友、森勇介、安達宏昭、高野和文、井上豪、松村浩由、村上聡
 特許出願人：安達宏昭
 出願日：2005/1/19
 出願番号：PCT/JP2005/000585

- 5) 発明の名称：高分子結晶の製造方法及び高分子結晶育成装置
 発明者：北野博史、安達宏昭
 特許出願人：ニコン、安達宏昭、佐々木孝友、森勇介、高野和文、井上豪、松村浩由
 出願日：2004/9/10
 出願番号：PCT/JP2004/013577
- 6) 発明の名称：結晶核の製造方法および結晶化条件スクリーニング方法
 発明者：佐々木孝友、森勇介、吉村政志、安達宏昭、増原宏、細川陽一郎、高野和文
 特許出願人：大阪産業振興機構
 出願日：2003/8/25
 出願番号：PTC/JP2003/010681

(5)受賞等

① 受賞

- 1) 増原宏
 “Outstanding contributions to the field of ultra short time and space domain photonics cole Normale Supérieure Cachan”
 名誉学位, the Docter Honoris Causa Degree from Ecole Normale Supérieure de Cachan (ENSC), 2006/11/07
- 2) 増原宏
 “Pioneering Laser-induced Time- and Space-resolved Micro/Nano-size Photochemistry”
 For the Pioneering Work on the Integration of Time and Spatially Resolved Measurements on the Emerging Fields of Nanosciences”
 Porter Medal 2006 (European, Inter-American, and Asian Photochemistry Societies)
 XXI'st IUPAC Symposium on Photochemistry, kyoto, Japan, 2006/04/07
- 3) 増原宏
 “レーザーナノ化学：方法論の開発と分子系ナノダイナミクスの解明”, 日本化学会 第 58 回日本化学会, 2006/3/27
- 4) 増原宏、佐々木孝友、森勇介、細川陽一郎
 “フェムト秒レーザーパルスによる蛋白質の結晶化”, 第 21 回 光産業技術振興協会 櫻井健二郎氏記念賞, 2005/12/1
 関連新聞掲載記事：日刊工業新聞 2005/12/5
- 5) 安達宏昭、細川陽一郎、増原宏、吉村政志、森勇介、佐々木孝友
 “短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化”, 第 29 回レーザー学会業績賞・論文賞 (解説部門), 2005/5/31
 レーザー研, Vol.32, No.2, pp.84-88 (2004)
- 6) 松村郷史、細川陽一郎、吉川洋史、松原千恵、増原宏、池田敬子、森肇
 “レーザーマニピュレーションを利用した新規マイクロチップの作製と応用(6)—溶液注入に対する耐久性評価—”, 第 14 回 (2003 年春季) 応用物理学会講演奨励賞受賞, 2003/3/29

②新聞報道

- 1) 読売新聞 (2007/3/26)
 “カイコウイルス結晶の構造解明” —京都工繊大研究グループ—森グループ
- 2) 朝日新聞 (2007/3/2)
 “ウイルスの「砦」解明” —薬入れて人体細胞に直送も—京都工繊大—森グループ
- 3) 毎日新聞 (2007/3/1)

- “蚕感染ウイルス解析”－保護多角体 X 線で－京都工繊大グループ－森グループ
- 4) 京都新聞 (2007/3/1)
“蚕の病気のなぞ解明”－ウイルスの”よろい”体内で溶解－森グループ
 - 5) 日刊工業新聞 (2007/3/1)
“カイコ寄生ウイルスが作る多角体の結晶構造解明”－京都工繊大－森グループ
 - 6) 日刊工業新聞, (2007/3/1) 増原宏、開祐司、細川陽一郎
“フェムト秒レーザー活用 細胞に糖鎖など導入 阪大と京大・再生医療研究に貢献”
増原・開祐グループ
 - 7) 日刊工業新聞, (2005/10/27)
“秒単位で尿素結晶成長 阪大 フェムト秒レーザー照射で実現”, 増原グループ
 - 8) 日刊工業新聞, (2005/10/6)
“有機ナノ粒子 レーザー使い作製技術 反応ダイナミクス解明に力”, 増原グループ
 - 9) 日刊工業新聞, (2005/7/26)
“大学発ベンチャーの挑戦－たんぱく質の高品質結晶化技術 受託事業を手掛ける”,
佐々木グループ
 - 10) 佐々木孝友、森勇介、安達宏昭
“阪大研究者、たんぱく質結晶化の新会社－三菱商事が出資”, 日経産業新, 2005/7/1
 - 11) 日刊工業新聞「阪大発ベンチャー企業と交流会」(2005-08-31) 佐々木グループ
 - 12) 日経バイオビジネス「「挑戦者」異分野の知を持ち寄って革新的な結晶化技術を確立」
(2005-08-15) 佐々木グループ
 - 13) 日刊工業新聞「大学発ベンチャーの挑戦－創晶」(2005-07-26) 佐々木グループ
 - 14) 毎日新聞「若手研究者が成果発表「バイオ」考えるセミナー」(2005-07-01) 佐々木グループ
 - 15) 日経産業新聞「阪大研究者、たんぱく質結晶化の新会社」(2005-07-01) 佐々木グループ
 - 16) 日刊工業新聞「阪大、たんぱく質結晶を液中で加工」(2005-06-29) 佐々木グループ
 - 17) 日刊工業新聞「阪大発 VB「創晶」が来月発足」(2005-06-24) 佐々木グループ
 - 18) 週刊ナノテク「常識を破った創晶プログラム－フェムト秒レーザーによるタンパク質結晶化を異分野連携で開発」(2005-06-20) 佐々木グループ
 - 19) 日刊工業新聞「バイオビジネスコンペ最優秀賞に安達氏ら 2 件」(2005-04-20) 佐々木グループ
 - 20) 読売新聞「阪大と慶大の 2 件 本選で最優秀賞に (バイオビジネスコンペ)」
(2005-04-19) 佐々木グループ
 - 21) 毎日新聞「バイオコンペ最優秀賞に阪大院安達さんら」(2005-04-19) 佐々木グループ
 - 22) 日本経済新聞「阪大と慶大、最優秀賞に (バイオビジネスコンペ)」(2005-04-19) 佐々木グループ
 - 23) 日刊工業新聞「たんぱく質結晶化に新手法－新薬開発 期間短縮に道一」(2005-03-11)
佐々木グループ
 - 24) 日刊工業新聞「たんぱく質単結晶育成 レーザー加工の“種”で実現」(2005-02-18) 佐々木グループ
 - 25) 日刊工業新聞「阪大 蛋白コンソと共同研究－構造・機能解析を推進」(2005-02-04) 佐々木グループ
 - 26) 日刊工業新聞「キャンパスベンチャーグランプリ OSAKA 入賞者による座談会」
(2005-01-25) 佐々木グループ
 - 27) 日刊工業新聞「たんぱく質結晶 球状加工に成功」(2005-01-20) 佐々木グループ
 - 28) 日刊工業新聞「レーザー照射し溶液攪拌 たんぱく質、効率結晶化」(2005-01-19) 佐々木グループ
 - 29) 日刊工業新聞「阪大、「創晶」立ち上げ：たんぱく質加工のベンチャー」(2005-01-17)
佐々木グループ

- 30) バイオニクス「逆転のタンパク質結晶化技術」(2004-11-22) 佐々木グループ
- 31) 日刊工業新聞「プレートで結晶化条件探索」(2004-11-17) 佐々木グループ
- 32) 日刊工業新聞「実験用プレートに温度勾配 阪大とキノテックが装置」(2004-10-28) 佐々木グループ
- 33) 日本経済新聞「たんぱく質の高品質な結晶製造のためのロボットを発売 (謙徳産業)」(2004-09-24) 佐々木グループ
- 34) 日刊工業新聞「たんぱく質結晶、容器から簡単に剥離」(2004-09-16) 佐々木グループ
- 35) 日刊工業新聞「膜タンパク質 フェムト秒レーザーで結晶化」(2004-09-07) 佐々木・増原グループ
- 36) 科学新聞「タンパク質結晶化装置：マイクロプレート上に温度勾配 (キノテック)」(2004-09-03) 佐々木グループ
- 37) 日経産業新聞「短波長固体レーザーの開発 (ニコン) –たんぱく質結晶の加工に利用–」(2004-08-12) 佐々木グループ
- 38) 日本経済新聞「たんぱく質 高品質で結晶化」(2004-07-19) 佐々木グループ
- 39) SPIE's oemagazine, Vol4, No.7, pp. 8-10
“Femtosecond Shockwave Isolates Single Cells for Researchers” (2004/07/01) 増原グループ
- 40) 日刊工業新聞「たんぱく質溶液攪拌し結晶化 – 阪大静置法に代わる手法開発 –」(2004-06-22) 佐々木グループ
- 41) 日刊工業新聞「多温度たんぱく質結晶育成装置の開発」(2004-06-11) 佐々木グループ
- 42) 日刊工業新聞「たんぱく質結晶化専用ロボ-阪大と謙徳産業が共同開発-」(2004-05-13) 佐々木グループ
- 43) 日刊工業新聞「衝撃波で細胞操作 フェムト秒レーザー活用」(2004-02-27) 増原グループ
- 44) 日刊工業新聞「たんぱく質結晶加工 X線回折パターン向上 阪大とニコン UVレーザー使用 そのままの状態でも可」(2004-02-13) 佐々木グループ
- 45) 日刊工業新聞「高品質 DAST 結晶を作製-有機結晶実用化へ-」(2004-02-05) 佐々木グループ
- 46) 日刊工業新聞「紫外線レーザーでたんぱく質加工～結晶へのダメージなし～」(2004-01-27) 佐々木グループ
- 47) 日刊工業新聞「たんぱく質の再利用に道 新型プロテインクリスタル開発へ」(2003-05-27) 森グループ
- 48) 化学工業日報「繰り返し使えるプロテインチップ」(2003-04-07) 森グループ
- 49) 日本産業新聞「たんぱく質解析チップ 再利用数十回可能に」(2003-04-07) 森グループ
- 50) 日本経済新聞「阪大と京大 光合成関連酵素 立体構造を解明植物の収量増も」(2003-03-31) 佐々木グループ

② その他

テレビ大阪「起業のまち 大阪 – 大阪大学発ベンチャー 株式会社創晶」(2005-09-18)

7 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H15.4.15	チームミーティング	阪大(吹田)VBL二階会議室	16名	予算・本年度計画などの話し合い
H15.9.6	富永チームミーティングに参加	神戸大	19名	共同研究模索など
H15.10.4	CREST勉強会(チーム内打ち合わせ)	阪大待兼山会館・二階会議室	21名	各グループ研究内容報告
H15.11.14	チームミーティング	川口・JST本部会議室	23名	チームミーティング
H16.1.17	講演会～演者:岩田達也博士(府大)	阪大(吹田)VBL二階会議室	16名	岩田博士による講演
H16.2.20	CREST勉強会(チーム内打ち合わせ)	京大・再生研・開研究室	10名	各グループ研究内容報告
H16.2.24	講演会～演者:中村敏一 阪大医学部教授	阪大(吹田)VBL二階会議室	15名	中村先生による講演
H16.3.15	チームミーティング	阪大(吹田)VBL二階会議室	18名	来年度に向けた話し合い
H16.3.22	藤田研(東大)との打合せ	阪大(吹田)VBL三階佐々木研	6名	結晶化実験の共同研究打合せ
H16.4.13	講演会～演者:谷口直之 阪大医学部教授	阪大(吹田)VBL二階会議室	25名	谷口先生によるご講演
H16.5.20	講演会～演者:Delmar Larsen 博士	阪大(吹田)VBL二階会議室	23名	Delmar Larsen 博士によるご講演
H16.7.5	研究ミーティング	京大・再生研・開研究室	6名	今後の研究の打合せ
H16.7.22	研究ミーティング	京工繊大・応用生物・森研究室	4名	今後の研究の打合せ
H16.11.2	研究ミーティング	京工繊大・応用生物・森研究室	5名	今後の研究の打合せ
H16.11.5	チームミーティング	阪大(吹田)VBL五階共用スペース	15名	11/10 および研究打合せ
H16.12.15	生物物理学会におけるシンポジウム開催・岡野先生ご講演含む	京都国際会議場	200名程度	ナノテクノロジーの基礎としての生物物理学

H16.12.21	勉強会～演者:Roy博士	阪大(吹田)VBL 二階会議室	12名	光受容蛋白質の応用技術 開発議論
H17.1.17	研究ミーティング	京大・再生研・開研 研究室	6名	今後の研究の打合せ
H17.2.22	研究ミーティング	京工繊大・応用生 物・森研究室	4名	今後の研究の打合せ
H17.2.28	予算及び研究ミーティ ング	阪大VBL・五階共 用スペース	5名	来年度の研究の進め方など 議論
H17.5.9	研究ミーティング			研究内容報告と打合せ
H17.5.16	研究ミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究内容報告と打合せ
H17.5.30	研究ミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究内容報告と打合せ
H17.6.13	研究ミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究内容報告と打合せ
H17.6.27	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究代表者会議に向けた 打合せ
H17.7.4	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究代表者会議に向けた 打合せ
H17.7.11	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究代表者会議に向けた 打合せ
H17.7.19	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究代表者会議に向けた 最終打合せ
H17.8.8	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		研究代表者会議報告
H17.9.5	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		中間報告書関連打合せ
H17.9.16	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		中間報告書関連打合せ
H17.9.28	チームミーティング	阪大VBL・五階共 用スペース		中間報告書関連打合せ
H17.10.26	チームミーティング	阪大(吹田)VBL 二階会議室		中間報告会関連打合せ
H17.11.9	チームミーティング	阪大(吹田)VBL 二階会議室		中間報告会関連打合せ

H17.12.26	チームミーティング	阪大VBL・五階共用スペース		研究内容報告と打合せ
H18.1.10	チームミーティング	阪大(吹田)VBL二階会議室		研究内容報告と打合せ
H18.1.16	チームミーティング	阪大VBL・五階共用スペース		研究内容報告と打合せ
H18.2.21	チームミーティング	阪大VBL・五階共用スペース		研究内容報告と打合せ
H18.4.17	研究ミーティング	阪大(吹田)VBL二階会議室		各グループの研究内容発表
H18.7.6-8	第3回国際ナノフォトニクスシンポジウム阪大(INPS3)	大阪大学吹田キャンパス・銀杏会館	約100名	CREST 徳永チーム及び河田チームの研究領域の相互理解を深めて研究進捗を図ることを目的として開催
H18.12.8	チームミーティング	阪大(吹田)VBL二階会議室	7名	各グループ研究報告と来年度の打合せ
H19.5.24	チームミーティング	大阪大学中之島センター・会議室1	9名	各グループ研究報告と最終年度の方針の打合せ
H20.2.5	チームミーティング	大阪大学中之島センター・会議室1	8名	各グループ最終研究報告と代表者会議への打合せ

8 研究成果の展開

(1) 他の研究事業への展開

研究成果が評価され、CREST 研究「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」の「タンパク質完全結晶創成」(研究代表者 森勇介)の研究に繋がった。

また、蛋白質の結晶化研究で見いだした画期的な手法を基盤にして、平成17年7月にベンチャー企業を立ち上げ、実用化を進めている。

さらに多角体については、平成19年度 地域新生コンソーシアム研究開発事業「増殖因子徐放化担体を固相化した細胞培養基材の開発」へと現在展開中であるのみならず、実際の「医療に向けた」取り組みとして、森肇を中心にサイトカイン固定化多角体を用いたサイトカイン徐放剤による臍帯血幹細胞増幅と心筋修復((財)先端医療振興財団との共同)、角膜再生(京都府立医科大学、同志社大学との共同)、再生医療への応用と細胞培養器材の開発(住友ベークライト(株)との共同)と多方面への連携を強め実用化に向けた取り組みを進めている。

(2) 実用化に向けた展開

平成17年7月に大阪大学発ベンチャー「株式会社創晶」を起業。

9 他チーム、他領域との活動とその効果

(1) 領域内の活動とその効果

富永チームのチームミーティングに参加 (H15.9.6) 水谷教授(現・阪大)との共同研究へと発展した。

若手の会を通じた動き

安達 : 藤田グループとの共同研究

中村 : 山下グループ・岩堀博士との共同研究

濱田 : 山下グループ・岩堀博士との共同研究、神戸大・竹内教授との共同研究

細川 : 芝グループ・高岡博士との共同研究

(2) 領域横断的活動とその効果

第3回国際ナノフォトニクスシンポジウム阪大(INPS3)(H18.7.6-8)(河田聡、徳永史生、増原宏)

10 研究成果の今後の貢献について

(1) 科学技術の進歩が期待される成果

従来の発想を超えた新たな蛋白結晶成長技術は、蛋白質結晶化という蛋白質構造解析のボトルネックを突破する重要な技術であり、生命科学領域の大きな発展に貢献することが期待できる。

多角体蛋白モジュールの活用技術は、好きな場所に好きなときに好きな量だけ作用させることのできる時空間的な局所刺激という意味で、細胞生物学的手法のブレークスルーになると考えられる。

フェムト秒レーザープロセッシングによる細胞オーダーのマикроパターンニングは、従来空白域であった空間サイズのパターンニング技術として重要な役割を担うことになることは増原グループが示してきた。実際にこの技術は本研究により実現されており注目技術として *Nature Photonics* に Technology Focus [1, 507 (2007)]として紹介され、今後の発展が期待されている。

(2) 社会・経済の発展が期待される成果

新規蛋白質結晶化手法は、創薬など、蛋白質構造解析に基礎を置く、産業の発展の土台となる実用技術である。

構造が解明された多角体蛋白結晶に基づく、機能蛋白固定化法は、蛋白質の担持、情報に関して、新たな手法を提供するもので、遺伝子操作のみにより、精製から固定化まで一

気に達成できる極めて有効・有望な実用化手法になりえる。

11 結び

初期の目標は、生物の階層性をモジュール化により概念的に模倣するという大胆かつ壮大なものであった。中間評価において計画の修正はあったが、最終的には本研究では、蛋白質から始まって、細胞増殖・分化へという壮大なコンセプトに相応しい、今後の展開の足場となる重要な成果が得られたと考えている。

そのコアとなったのは、カイコのウイルス由来の多角体蛋白質に機能を発現させたい蛋白質を固定化させることで、細胞オーダーの局所的な配置を可能にしたことであり、また固定化する蛋白質としてサイトカインに着目し、細胞増殖・分化への橋渡しの戦略を確立したことである。多角体蛋白質の結晶構造を明らかにすることに成功し、固定化された蛋白質の機能発現を、物理的にも、また、生理活性の面からも、検証することができた。

また、レーザープロセッシングによるマイクロパターニングや非侵襲的な細胞動態観察などの基盤技術を開発してきた。今後、多角体と関連技術は、細胞生物学が希求してきた、好きな時間に好きな場所に好きな量作用させることができる「時空間制御可能な」新しい実験ツールとして、組織形成や細胞分化メカニズムの解明に役立つことが期待できる。

さらに、研究のバイプロダクトとしての個別の新しい技術展開、研究展開が生じたことも特筆すべきである。とりわけ、佐々木グループによる蛋白質新規結晶化技術から、ベンチャー企業「株創晶」が生まれた。また、多くのグループで、新しい研究プログラムへの展開が生じるなど、実り多い成果が得られたと思っている。

中間評価において、研究コンセプトの壮大さから来る研究テーマの分散化傾向が生じたが、茅先生はじめ、アドバイザーの方々によるご助言により、戦略的な絞込みを行って、前進することができた。また、財政面でもご支援いただき、感謝している。

研究推進事業のひとつの評価基準は、チームの構成メンバーである若手研究者が、いかに将来活躍していくかということである。戦略的創造研究推進事業は、今回、若手の研究交流を積極的に推進するなど、彼らの成長の糧となった。今後、若手の活躍の場としても、さらに整備されて行き、その舞台の上で、再度、彼らが活躍し、将来の科学技術を牽引することを期待する。