

Title	NIR pulse laser-induced ablation in cell studied with electron microscopy
Author(s)	新岡, 宏彦
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49318">https://hdl.handle.net/11094/49318</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	新 岡 宏 彦
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 23109 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	NIR pulse laser-induced ablation in cell studied with electron microscopy (近赤外パルスレーザー照射によって細胞内で誘起されるアブレーションに関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 井上 康志 (副査) 教授 木下 修一 教授 難波 啓一 教授 平岡 泰 特任講師 Nicholas Isaac Smith

## 論文内容の要旨

Near-infrared (NIR) pulsed lasers have been used in biology for diverse applications. Optical breakdown induced by focusing the laser allows us to dissect/stimulate cells with submicron order precision, which is applied for gene introduction through plasma membrane disruption, firing neuron etc. Because of this background, it is important for precise and less-invasive cellular modification to understand the onset and morphology of femtosecond laser submicron ablation in cells e.g. threshold energy for laser ablation and to study physical evidence of intracellular laser irradiation.

To accomplish that goal, cells were irradiated with NIR pulse laser (780 nm, 82 MHz, 80 fs) and the submicron sized laser-ablated areas in cells were observed with transmission electron microscopy (TEM). The laser was irradiated to fixed cellular cytoplasm and TEM image clearly shows the laser-ablated region. And to induce the evidence of ablation there was threshold mean power which is around 40 mW in cytoplasm. By observing ultrathin sliced cellular sections, the laser-affected region is reconstructed, and found to be comparable to the point spread function of the laser irradiation, which implies bubble type ablation is induced or effect of linear absorption is dominant. The lack of observations without fixation before the irradiation was attributed to the rapid collapse of the laser-induced bubbles and/or the diffusion of any observable physical effects from the irradiation site.

The evidences of NIR laser pulsed-induced ablation were observed with the same condition of the laser irradiation where  $\text{Ca}^{2+}$  wave in cells is induced via the irradiation of NIR pulses. This result implies that the disruption of  $\text{Ca}^{2+}$  stores (ER, mitochondria etc) by laser irradiation cause  $\text{Ca}^{2+}$  through amplification process called  $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release (CICR).

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、近赤外フェムト秒パルスレーザーを細胞内部に集光した際に、そのレーザーパワーが生体細胞に与える影響について、細胞内の構造変化を透過電子顕微鏡により直接観察することで、定量的に評価した研究成果をまとめたものである。とくに、細胞内で生じた形態変化が、フェムト秒パルスレーザーの多光子過程により誘起される近赤外光の吸収領域よりも2倍程度大きいことを見出し、焦点スポット付近で誘起される物理的な現象として、熱や、熱によってバブルが誘起される可能性について詳細に議論した。これら結果は先行研究により提示された細胞内の $\text{Ca}^{2+}$ ストアの破壊によって $\text{Ca}^{2+}$ 波が誘起されることを強く支持している。さらに、近赤外フェムト秒パルスレーザーを照射し細胞膜に生じた穿孔近傍に小胞体が集積し、細胞膜が修復される過程についても観察することに成功し、フェムト秒パルスレーザーの細胞加工技術としての可能性も示した。

以上のように、本論文では、生体イメージングで利用されるようになった近赤外フェムト秒パルスレーザーが生体細胞に誘起する現象を明らかにするものであり、これら研究成果は、生命機能学、とくにバイオフォトニクス学に寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。