カリウムイオンイメージセンサを用いた海馬スライス K⁺放出測定

Analysis of glutamate regulated function in neurons using potassium ion image sensor

 $^{\circ}$ 河野顕輝 1 ,櫻井孝司 1,2,3 ,奥村弘一 1,3 ,服部敏明 1,3 ,石田誠 1,2,3 ,澤田和明 1,2,3

 $^{\rm O}$ A. Kono $^{\rm 1}$, T. Sakurai $^{\rm 1,2,3}$, K. Okumura $^{\rm 1,3}$, T. Hattori $^{\rm 1,3}$, M. Ishida $^{\rm 1,2,3}$, K. Sawada $^{\rm 1,2,3}$

豊橋技科大¹, EIIRIS², JST-CREST³

Toyohashi Univ. of Tech.¹, EIIRIS ², JST-CREST ³

E-mail: kono-a@int.ee.tut.ac.jp

背景

カリウムイオン(K^+)は海馬において学習と記憶に関連する重要な信号物質である。最近の研究では空間記憶における K^+ の役割が示唆されており K^+ 動態の時空間計測は記憶病態発症のメカニズム解明につながる。しかし、海馬における K^+ のダイナミクスを評価する手法は存在せず、組織全体にわたった分子レベルでの実時間計測法が求められている。本研究では K^+ イメージセンサを用いて、海馬スライスの K^+ 濃度分布画像取得して、 K^+ 放出を観測した。

実験方法

 K^+ イメージセンサは 128 x 128 画素の電荷 転送型 pH イメージセンサ $^{[1]}$ とイオン選択性可 塑化 PVC 膜 $^{[2]}$ を用いて製作した。 K^+ 選択性可 塑化 PVC 膜は、ポリ塩化ビニルと可塑剤の他 に、イオノフォアとしてバリノマイシン、アニオン排除剤、ナノフィラーを含む。使用した海馬スライスは生後 5 日目のラットを使用した。ラットの海馬を約 400 μ m にスライスし、 CO_2 5 %, 37 $^{\circ}$ Cのインキュベータ培養室内にて 5 日間培養した。この培養した海馬スライスを K^+ イメージセンサ上に Recording Medium と共に 設置した(Fig.1)。

結果

海馬スライスから K^+ 放出を促すためグルタミン酸刺激を行った。グルタミン酸は最終濃度 1 mM とし、海馬スライス上に滴下した。測定結果を Fig.2, 3 に示す。滴下した直後より海馬スライスの一部分で K^+ 濃度が急激に増加した。その後、濃度は迅速に下がり始めた。この現象は、海馬スライスが刺激によって一時的に K^+ を放出し、その後に K^+ を回収している現象が見えていると考えている。

参考文献

1. F. Dasai,et al., "A 128 x 128 pixels charge transfer type pH and photo image sensor with high density and high frame rate", *Proceedings of the*

- 6th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro/Nano Technologies (APCOT2012), ac12000201, (2012)
- T. Hattori, et al.,"Real-time two-dimensional imaging of potassium ion distribution using an ion semiconductor sensor with charged coupled device technology", Analytical sciences October 2010, vol. 26, pp. 1039-1045

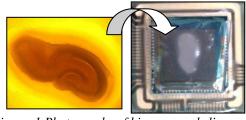


Figure .1 Photographs of hippocampal slice and Arrangement of potassium ion image sensor. The hippocampal slice was put on potassium ion image sensor.

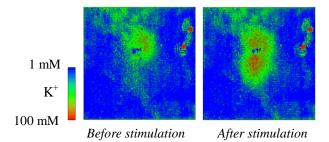


Figure .2 Images of extracellular potassium ion concentration ($[K^+]_o$) of the hippocampal slice.

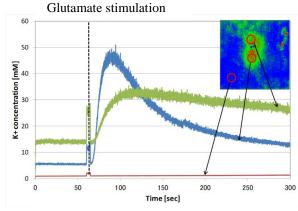


Figure .3 Time course of $[K^+]_o$ of the hippocampal slices.