

## 培養型プレーナーパッチクランプによる神経細胞 ネットワークからの多点イオンチャネル電流計測

### Neural Network Formation and Multiple points Channel Current Measurement

#### Using Incubation Type Planar Patch Clamp Biochip with Cell Cage Pattern

名大<sup>1</sup>、JST-CREST<sup>2</sup>、日大<sup>3</sup>、富山県立工業技術センター<sup>4</sup>、立山マシン(株)<sup>5</sup>

王志宏<sup>1,2</sup>、長岡靖崇<sup>1,2</sup>、宇野秀隆<sup>1,2</sup>、小林啓<sup>1,2</sup>、皆藤孝<sup>3</sup>、鍋澤浩文<sup>4</sup>、人母岳<sup>5</sup>、宇理須恒雄<sup>1,2</sup>

Nagoya University<sup>1</sup>, JST-CREST<sup>2</sup>, Nihon University<sup>3</sup>,

Toyama Industrial Technol. Cent.<sup>4</sup>, Tateyama Machine Co. Ltd.<sup>5</sup>

°Zhi-Hong Wang<sup>1,2</sup>, Yasutaka Nagaoka<sup>1,2</sup>, Hidetaka Uno<sup>1,2</sup>, Kei Kobayashi<sup>1,2</sup>,

Takashi Kaito<sup>3</sup>, Hirofumi Nabesawa<sup>4</sup>, Takeshi Hitobo<sup>5</sup>, Tsuneo Urisu<sup>1,2</sup>

E-mail: zhwang@nanobio.nagoya-u.ac.jp

はじめに: 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) やアルツハイマー病は100年以上の研究にも関わらず、原因も確たる治療法も不明の難病である。このような難病である理由は二つある。その第一は患者が存命中に病巣である神経細胞を採取できなかったことである。第二の理由は、神経細胞ネットワークの機能不全を知る上で最も重要な情報である、イオンチャネル電流の多点計測技術が無いことであると考えられる。第一の問題は iPS 細胞や ES 細胞の研究の最近の発展により克服されつつある。この第二の課題を克服するため、我々は、培養型プレーナーパッチクランプ技術を開発し、神経細胞からのイオンチャネル電流計測に最近成功したところである(1)。しかし、実際に神経細胞ネットワークに適用するためにはプレーナー型の特徴をフルに発揮した多点計測を実現する必要がある。今回多点計測を目指して、ポリカーボネイトによるセルケージ基板の開発とイオンチャネル電流計測を行ったので報告する。

実験1: 細胞体の位置を固定した神経細胞の長期初代培養にはセルケージ基板が有効であることを既に報告した。今回は両面ホットエンボスによりセルケージ基板を成型し、収束イオンビーム加工とドライエッチングによる多点の微細貫通穴形成を行なった(図1)。ドライエッチング加工は将来の超多点微細貫通穴形成にはコスト面で非常に有利と考える。

実験2: 制作したポリカーボネイトのセルケージ基板上で、妊娠17日のラット胎児の大脳皮質神経細胞の初代培養を行い、培養16日で神経細胞ネットワークの形成と細胞体が微細貫通穴上に存在することを確認し、その基板をイオンチャネルバイオセンサー素子に搭載し、ホールセルモードでのチャネル電流計測を試み、自然放出シナプス電流と考えられるチャネル電流の計測に成功した(図2)

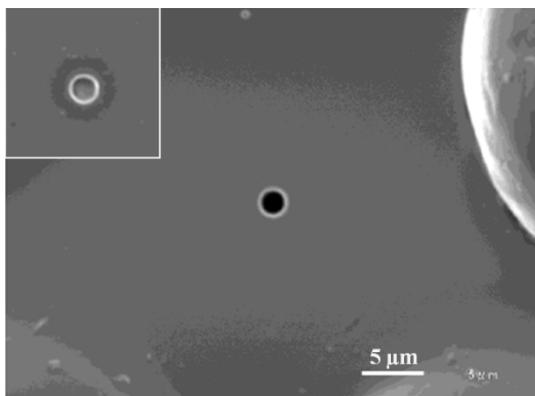


Fig.1 SEM photograph of micropore with 2  $\mu\text{m}$  diameter formed by dry etching. Ti thin film was used as an etching mask. Top-left is the image before dry etching.

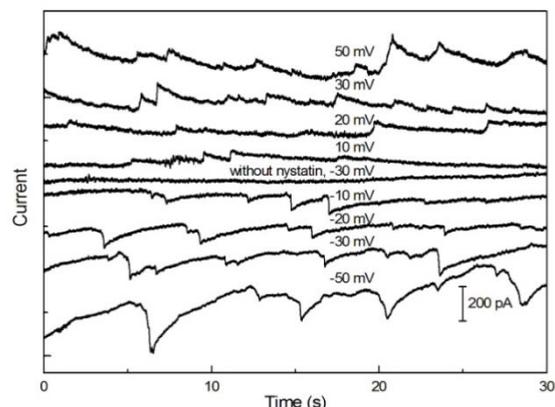


Fig.2 Channel current measurement after neuron primary culture 16 days.

(1) Zhi-Hong Wang *et al.*, 2013 年第 74 回応用物理学会秋季学術講演会, 2013-9-16 ~ 2012-9-20, 田辺市, 京都