19a-A3-7

グルタミン酸電流と興奮性シナプス後電位の同時測定法

Simultaneous Recording of L-Glutamate Current and field EPSPs

東北大院医工 [1]，東北大学際研 [2]，東北大通研 [3]

○松村亮佑 [1]，平野愛弓 [1]，山本英明 [2]，庭野道夫 [1,3]

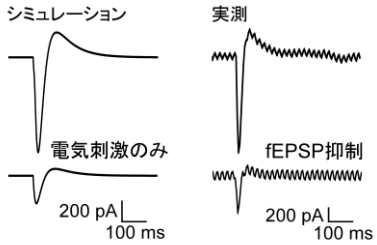
Grad. Sch. Biomed. Eng., Tohoku Univ. [1], FRIS, Tohoku Univ.[2], RIEC, Tohoku Univ.[3],

○Ryosuke Matsumura[1], Ayumi Hirano-Iwata[1], Hideaki Yamamoto[2], Michio Niwano[1,3]

E-mail: ahirano@bme.tohoku.ac.jp

【緒言】生体脳で実現されている情報伝達などの機構を理解することは，生理学のみならず情報処理の観点からも関心を集めており，神経情報伝達機構を解析するための新しい手法の開発が望まれている。本研究では，シナプスにおける前細胞と後細胞の活動の同時モニタリング法の確立を目指し，マウス海馬スライス内において，電気刺激によって放出されるグルタミン酸のクロノアンペロメトリと，刺激によって誘起される fEPSP(field Excitatory Post Synaptic Potential)記録の同時測定を行った。さらに電気生理学と電気化学的手法の結合による干渉についても回路シミュレーションに基づく検討を行い，干渉を受けることなく同時測定が可能となる手法を創案した。

【実験】グルタミン酸センサは，グルタミン酸オキシダーゼ(GluOx)修飾電極を作用電極とし，参照電極，補助電極とともにアスコルビン酸オキシダーゼが内封されたキャピラリ内に入れて作製した。同様に，GluOx を修飾しない電極を作用電極としたブランクセンサを作製した。刺激電極と記録電極，グルタミン酸センサもしくはブランクセンサを急性マウス海馬スライスに挿入して電気刺激を行い，グルタミン酸電流と興奮性シナプス後電位の同時計測を行った。



【結果・考察】海馬スライスにセンサを置き，電気刺激を加えた時の応答電流を比較した結果，グルタミン酸電極のみならずブランク電極においても同様の電流波形が見られた。これらの結果は，電気刺激とそれによって誘起された fEPSP によって，ポテンシオスタットで固定されるべき電極電位が変動するために容量性電流（アーティファクト）が生じることを示唆する。そこで電気刺激および fEPSP によって発生する容量性電流をシミュレーションした結果，電流波形は観測波形とよく一致していた（図）。次に，グルタミン酸由来の酸化還元電流を抽出するための方法として，容量性電流が減衰した点をサンプリングする手法を考案した。各刺激後 450 ms の点をプロットすると，2 Hz の電気刺激に対してグルタミン酸センサでは電流信号が増大し，一方ブランクセンサでは有意な変化は観測されなかった。さらに，グルタミン酸放出を増大させる paired-pulse 刺激によってグルタミン酸電流はさらに増大し，本手法が電気刺激によって放出される細胞外グルタミン酸の濃度変化を fEPSP の影響を受けずに検出できる有用な手法であることが示された [1]。

[1] A. Hirano-Iwata, R. Matsumura, R. Tezuka, M. Niwano, T. Bliss and M. Sugawara, Electrochem. Commun., 45, 1-4 (2014).

© 2014 年　応用物理学会