

有機シラン単分子膜パターン基板を用いたモジュール構造型培養神経回路の構築

Fabrication of modular neuronal networks in culture using micropatterned surfaces

早大理工¹, 東北大学際研² °石原 広識¹, 藤森 壮也¹, 山本英明², 谷井孝至¹

Waseda Univ, Tohoku Univ. °Koji Ishihara, Soya Fujimori, Hideaki Yamamoto, Takashi Tani

E-mail: ishihara@tanii.nano.waseda.ac.jp

【背景・目的】脳は外部刺激を受けていない状態でも自発的に活動する。従来、この自発活動はランダムであると考えられてきたが、巨視的に見るとある特定の順番とタイミングをもっていることが近年分かってきた[1]。つまり、脳は外部からの刺激がなくても複数の状態を遷移しており、刺激があった際にはその状態を微調節するシステムになっていると考えられる。しかしながら、この自発活動の起源についてはよく分かっていない。

培養神経系でも自発発火が起こることが知られており、脳の自発活動に対するモデル系となる。私たちは特に、細胞親和性が異なる 2 種の有機薄膜のパターンをガラス基板表面に形成することで、回路内の神経細胞数や神経突起間の接続を制御し、この回路に発現する自発活動を計測してきた。前回の報告[2]では、基板表面での細胞密度を一定にした場合、①回路規模の増大(すなわち、神経細胞数の増加)にともなって自発発火の頻度が増加し、さらに回路全体が同期して発火するようになること、② $500 \times 500 \mu\text{m}^2$ より広い領域に形成したランダム接続回路では一定の周期で同期発火が観測されるけれども、 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ 程度に規模を縮小(すなわち、細胞数を減少)した回路では同期発火の頻度が低下し、発火周期もまばらになること、を報告した。今回、神経回路の結合状態と活動の同期性との関係を明らかにするために、Fig. 1 に示すように、 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ のランダム接続回路を単位ブロックとし、4 個の回路ブロック同士を接続する軸索の本数を制御して、同期発火頻度、発火の持続時間、活動の相互相関係数の違いを調べた。

【実験方法】細胞接着阻害領域には poly (ethylene glycol) silane、細胞接着可能領域には poly-D-lysine (PDL) を用いた。この基板上に胎生 18 日のラット胎児大脳皮質神経細胞を播種し、10 日間グリア細胞と共培養した。構築された神経回路で起こる自発発火を、蛍光色素 Fluo-4 を用いた Ca イメージングによって観察した。

【結果・考察】 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ のパターン間の接続がないもの (Fig. 1(a)) では、4 個の回路ブロックそれぞれにおける同期発火に相関がないことを確認した。一方、4 個の回路ブロック間の接続(すなわち、軸索本数)を制御した回路では、軸索の本数の増加にともなって、4 個の回路ブロックが全体として同期発火するようになった。さらに、その同期発火の頻度も増加し、周期性が高まることも分かった。Fig. 1(c) に示すように、4 個の回路ブロックを外周だけで接続したことにより、特異な同期パターンが見られることも分かった。なお講演では、回路接続と同期発火の関係について詳細に報告する予定である。

本研究は、科研費・研究活動スタート支援、基盤研究(C)、ならびに早稲田大学・特定課題研究助成費の支援を受けて行われた。

参考文献: [1] Y. Ikegaya *et al.*, Science 304 (2004) 23. [2] 森田麻裕 他、第 60 回応用物理学会春季学術講演会講演予稿集 29A-G17-3.

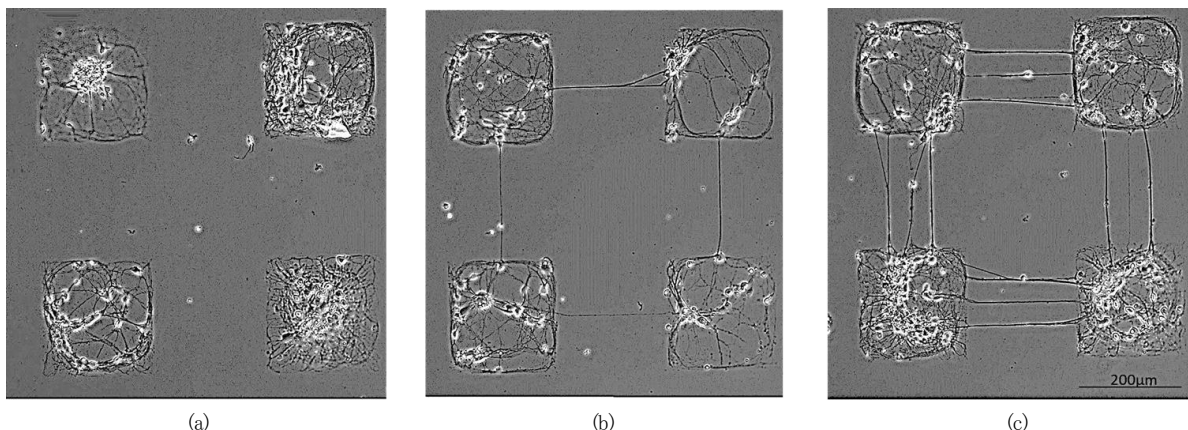


Fig. 1 マイクロ加工基板上に作製した培養神経回路 (a) 4 つの $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ のパターン間に接続を持たない回路 (b) 4 つの $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ のパターン間に 1 本ずつ接続を持つ回路 (c) 4 つの $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ のパターン間に 3 本ずつ接続を持つ回路