

マイクロコンタクトプリンティング法に基づく培養神経細胞の極性制御

Controlling orientation of cultured nerve cells based on microcontact printing

東北大学大学院医工学研究科¹, 東北大学電気通信研究所²°高沖 英里¹, 小山内 進一郎¹, 平野 愛弓¹, 木村 康男², 庭野 道夫^{1, 2}Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku Univ.¹, RIEC, Tohoku Univ.²°Hidesato Takaoki¹, Shinichiro Osanai¹, Ayumi Hirano-Iwata¹, Yasuo Kimura², Michio Niwano^{1, 2}

E-mail: niwano@riec.tohoku.ac.jp

【緒言】生体脳で実現されている情報伝達や記憶・認知・判断などの機構を理解することは、生理学の観点のみならず情報処理の観点からも関心を集めている。一方、脳の主要構成要素である神経細胞を人工的に培養した系は、脳機能の理解のための簡略なモデル系として注目されてきたが、培養神経細胞の配置や配向の制御が難しく、無秩序な回路網が形成されてしまうことが課題となっていた。本研究では、マイクロコンタクトプリンティング法を用いてガラス基板上に細胞接着領域を非対称にパターンニングすることにより培養神経細胞の配置および軸索-樹状突起極性の制御を試みたので、ここに報告する。

【実験】フォトリソグラフィーによってシリコン基板上に形成したレジストパターンを鋳型として、ポリジメチルシロキサン (PDMS) スタンプを作製した。この PDMS スタンプを用いて、Poly-D-Lysine とコラーゲンを混ぜたインクをカバーガラス上に転写して細胞接着パターンを形成した。生後 1~2 日の ICR マウスの海馬から神経細胞を摘出してスタンプしたカバーガラス上に播種し、大脳皮質より摘出したアストロサイトと共培養した。培養 3~5 日後にこのカバーガラスを取り出し、軸索と樹状突起部位を Tau-1 抗体および MAP2 抗体でそれぞれ染色して神経細胞の極性を確認した。

【結果と考察】はじめに、蛍光標識ポリリジンスタンプしたカバーガラスを観察して、パターンデザインの転写確認を行ったところ、ほぼ全てのカバーガラスにスタンプ形状を転写できていた。次に、免疫染色法によりパターン上に培養した神経細胞の樹状突起の方向を調べた結果、6 割を超える確率で樹状突起の伸長方向をパターンの向きに誘導できていることが分かった。以上より、細胞接着部の形状パターンを非対称にすることにより、培養神経細胞の軸索-樹状突起の極性を制御することに成功した。今後は、さらなるパターン形状の改良により細胞の配置・極性の制御確率を向上させるとともに、機能的シナプス形成による培養神経細胞間の配線へと展開したい。

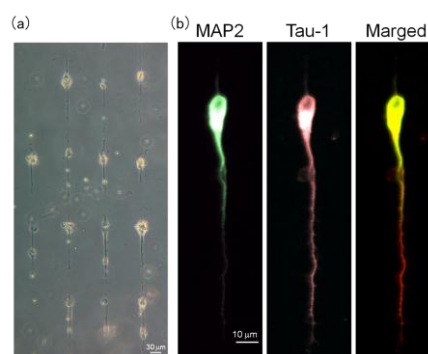


図. (a) パターンニングされた神経細胞の位相差観察像. (b) 神経細胞の免疫染色画像.