

ITO 基板上の神経細胞の SEM 観察

SEM Observation of Neurons on an ITO Substrate

NTT 物性科学基礎研究所

○後藤東一郎, 河西奈保子, Rick Lu, 田中あや, 塚田信吾, 住友弘二

NTT Basic Research Laboratories

○Toichiro Goto, Nahoko Kasai, Rick Lu, Aya Tanaka, Shingo Tsukada, and Koji Sumitomo

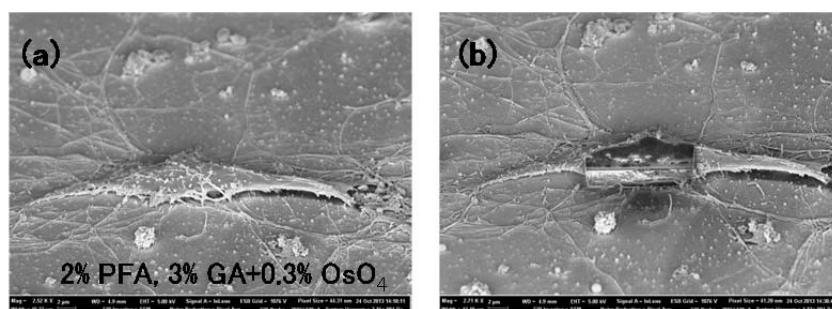
E-mail: goto.touichiro@lab.ntt.co.jp

【緒言】我々は人工シナプスの構築を目指し、これまでポストシナプスに相当するホールデバイス構造について報告してきた。人工シナプスを構築するためには、プレシナプスとなる神経細胞の末端をホール開口部まで誘導しなければならない。そのためには基板上に成長した神経細胞の微細構造や基板との境界構造が神経細胞の成長制御の基礎情報として必要になる[1]。今回、ITO 基板上に培養した細胞の表面構造と細胞固定化法の対応関係を調べたので報告する。

【試料作製】Wistar rat の胎児(18 日)から採取した大脳皮質をポリ-D-リジンとラミニンで被覆した ITO 薄膜付石英基板上に培養した。基板上の細胞はパラフォルムアルデヒド(PFA)とグルタルアルデヒド(GA)で固定後、さらに四酸化オスmium(OsO_4)で固定し、エタノール置換による脱水と t-ブタノールによる凍結乾燥を経て、最後に金を 5nm スパッタして導電性を高めた。細胞固定法と SEM 像の対応関係を調べるため、PFA は 0.2 及び 0.4%濃度、GA は 3%濃度、 OsO_4 は 0.2-0.5%濃度(0.1%ステップ)で固定した試料を観察した。試料の SEM 像は 5-10kV の加速電圧下で観察した。また、細胞と基板の境界構造を観察するために、FIB(50-120pA@30kV)を用いて試料の断面を加工して SEM 観察を行った。

【結果】PFA と GA に加えて OsO_4 で固定した試料では高い細胞密度で細胞の微細構造が確認された[図 a]。特に OsO_4 濃度を上げると基板上の細胞密度が上がる傾向にあった。また、細胞の断面構造も比較的微細に観察できることも確認した[図 b]。しかし、試料によっては微細な断面構造が確認されないこともあった。これは細胞内のリン脂質やオレフィンが OsO_4 に酸化されることに起因すると考えられる。本研究の試料固定化法が細胞の SEM 観察に有効であることが示唆されるが、断面構造の微細観察については OsO_4 濃度や FIB 切断条件の更なる最適化が必要と考えられる。

[1] Kasai et al., Accin-12 & ICSPM21 7PN-77.



SEM images of cultivated cells on an ITO substrate fixed by (a) 2% PFA, 3% GA + 0.3% OsO_4 . (b) is a cross section of the cell (a).